

**TERAPI EKSTRAK KITOSAN CANGKANG RAJUNGAN
(*Portunus pelagicus*) TERHADAP EKSPRESI FGF-2 DAN
JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA TIKUS (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI LUKA BAKAR**

SKRIPSI

Oleh :

GARNIS RETNO SUSANTY

145130101111059



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

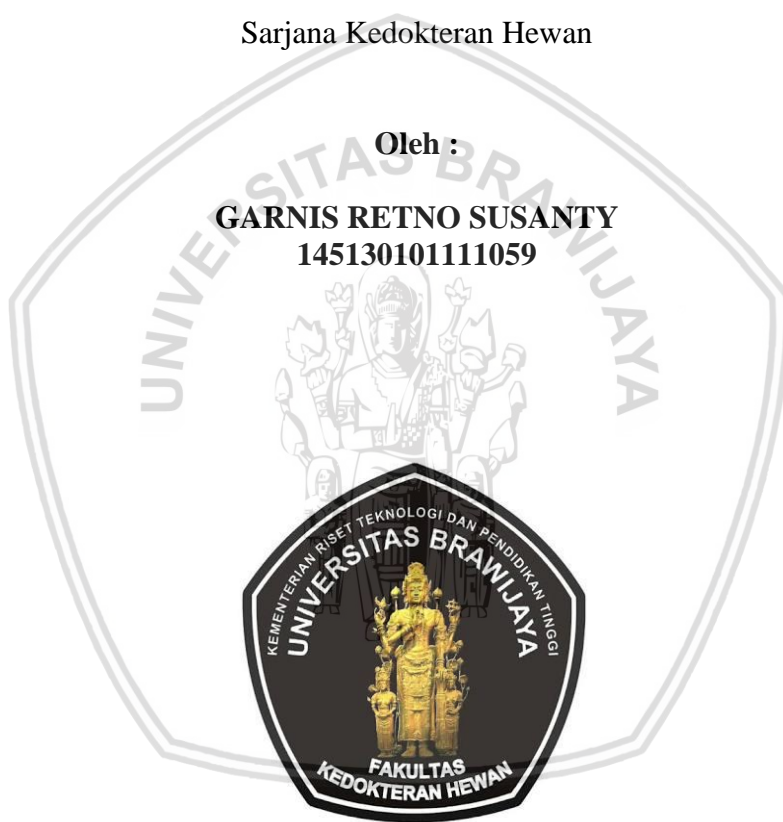
**TERAPI EKSTRAK KITOSAN CANGKANG RAJUNGAN
(*Portunus pelagicus*) TERHADAP EKSPRESI FGF-2 DAN
JUMLAH SEL FIBROBLAS PADA TIKUS (*Rattus
norvegicus*) YANG DIINDUKSI LUKA BAKAR**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

**GARNIS RETNO SUSANTY
145130101111059**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Terapi Ekstrak Kitosan Cangkang Rajungan (*Portunus Pelagicus*) Terhadap
Ekspresi FgF-2 Dan Jumlah Sel Fibroblas Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*)
Yang Diinduksi Luka Bakar**

Oleh:
GARNIS RETNO SUSANTY
145130101111059

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji pada tanggal 24 Juli 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

Wibi Riawan, S.Si., M.Sc
NIP. 197701312005011001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Garnis Retno S.

NIM : 145130101111059

Program Studi : Pendidikan Kedokteran Hewan

Penulis Skripsi Berjudul :

Terapi Ekstrak Kitosan Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) Terhadap Ekspresi FGF-2 dan Jumlah Sel Fibroblas pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Luka Bakar

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktubdi isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 24 Juli 2018

Yang Menyatakan,

(Garnis Retno S.)

NIM. 145130101111059

Terapi Ekstrak Kitosan Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) Terhadap Ekspresi FGF-2 dan Jumlah Sel Fibroblas pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Luka Bakar

ABSTRAK

Luka bakar merupakan rusaknya sebagian jaringan tubuh yang diakibatkan oleh perubahan suhu tinggi, sengatan listrik, maupun kontak langsung dengan bahan kimia. Kitosan yang terkandung dalam cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) dapat digunakan sebagai alternatif pengobatan luka bakar yang berpotensi meningkatkan ekspresi FGF-2 dan proliferasi sel fibroblas. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh terapi salep kitosan ekstrak cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap luka bakar derajat II dalam pada tikus putih berdasarkan ekspresi FGF-2 dan sel fibroblas. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK), dengan tikus diinduksi luka bakar dibagi dalam 2 perlakuan terdiri dari 6 kelompok, yaitu perlakuan kontrol (pemberian bioplasenton) dan perlakuan terapi (pemberian salep kitosan ekstrak cangkang rajungan konsentrasi 5%) selama 7 hari. Kemudian setiap kelompok diamati pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-7. Pengamatan sel fibroblas dilakukan menggunakan metode histopatologi kulit dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin dan ekspresi FGF-2 menggunakan metode imunohistokimia (IHK) dengan menghitung jumlah sel makrofag yang mengekspresikan menggunakan *software image raster*. Data dianalisis secara kuantitatif dengan Microsoft Excel dan SPSS for windows analisis statistik ragam One Way ANOVA Faktorial (*General linear*). Hasil penelitian menunjukkan bahwa salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas sebesar 71% dan 51% serta ekspresi FGF2 sebesar 33% dan 24% pada hari ke 3 dan 7. Kesimpulan dari penelitian ini adalah penggunaan salep kitosan dapat digunakan untuk terapi topikal pada luka bakar.

Kata kunci : Luka bakar, fibroblas, FGF-2, kitosan, cangkang rajungan.

Extract Therapy of Chitosan Shell Crab(*Portunus pelagicus*) on FGF-2 Expression and Number of Fibroblast Cell on Rats (*Rattus norvegicus*) induced by burn

ABSTRACT

Burn is partly damaged body tissues which caused by high temperature changes, electric shock, or direct contact on chemicals. Chitosan contained in the shell crab (*Portunuspelagicus*) can be used as an alternative treatment of burn that potentially increases FGF-2 expression and fibroblast cell proliferation. This study aims to determine the effect of chitosan ointment shell crab (*Portunuspelagicus*) extract therapy against at II degree for Rat based on FGF-2 expression and fibroblast cell. This study is experimental using *RancanganAcakKelompok* (RAK) with burn induced rats divided into 2 treatments consisting of 6 groups, control (using bioplasenton) and therapy (using chitosan ointment shellcrab (*Portunuspelagicus*) concentration 5%) for 7 days. Then each group was observed on Day 1, Day 3 and Day 7. The observation of fibroblast cell was done using histopathology method of skin with Hematoxylin-Eosin staining and FGF-2 expression using immunohistochemical observation method (IHK) by counting the number of expressed macrophage cells using imageraster software. Data were analyzed quantitatively using Microsoft Excel and SPSS for windows with Statistical Analysis of One Way ANOVA Factorial (General linear). The results showed that the extract of chitosan shell crab (*Portunuspelagicus*) could increase fibroblasts cells by 71% and 51% and FGF2 expression by 33% and 24% on days 3 and 7, respectively. Conclusion of this research is the use of chitosan have possibility a topical therapy on burn condition.

Key words : Burn, fibroblasts, FGF-2, chitosan, shell crab.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Terapi Ekstrak Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) Terhadap Ekspresi FGF-2 dan Jumlah Sel Fibroblas pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Luka Bakar”.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu secara langsung maupun tidak langsung dalam menyelesaikan skripsi ini, yaitu :

1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku dosen pembimbing pertama dan Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya (FKH UB) yang telah bersedia membimbing dengan penuh kesabaran, memberikan arahan, motivasi dan tambahan pengetahuan.
2. Wibi Riawan, S.Si., M.Sc sebagai dosen pembimbing kedua, atas dorongan semangat, bimbingan, nasihat, kesabaran, serta tambahan ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
3. drh. Ahmad Fauzi, M.Sc sebagai dosen penguji pertama dan drh. Galuh Chandra Agustina, M.Si sebagai dosen penguji kedua yang telah memberikan saran dan masukan untuk memperbaiki penelitian dan penulisan skripsi.
4. Laboratorium Biokimia dan Patologi FK Universitas Brawijaya, dan Laboratorium Farmasi FK Universitas Airlangga yang telah membantu penulis dalam penelitian.

5. Orang tua Edi Susanto, S.Pd., Endang Retno W., serta kedua adik tercinta Maulandani A. Dan Nurisky Annisa Z. yang selalu memberikan doa, dukungan, semangat dan motifasi yang tiada henti untuk penulis sehingga semuanya menjadi lancer dalam penelitian dan penulisan skripsi.
6. Sahabat sekaligus rekan satu tim penelitian Annisa W., Nadila Dwi A., Novembrianti H., dan Winda Hermin A., yang telah bekerja dan berjuang bersama dalam penelitian ini, serta seluruh sahabat terdekat yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.
7. Teman sekaligus keluarga “Chelonia 2014 C” serta seluruh mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan yang telah memberikan semangat dan dukungan kepada penulis.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penelitian dan penulisan skripsi ini jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala kritik dan saran yang membangun. Akhirnya semoga tugas akhir sarjana ini dapat bermanfaat.

Malang, 24 Juli 2018

Penulis

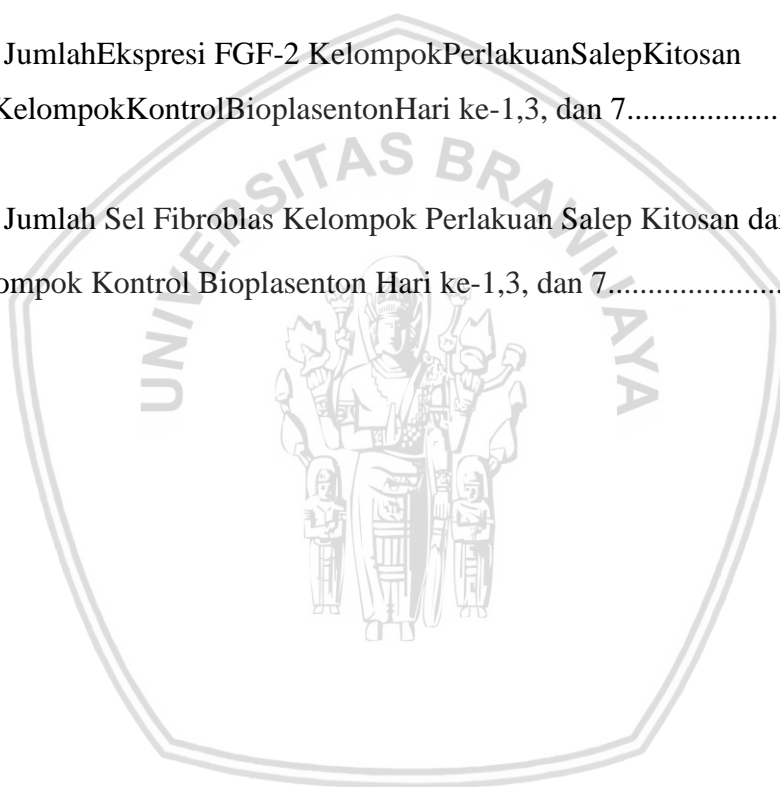
DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xii
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>)	5
2.1.1 Klasifikasi	5
2.2 Kulit	7
2.2.1 Definisi	7
2.2.2 Struktur	7
2.2.3 Fungsi	9
2.3 Luka Bakar	9
2.3.1 Definisi	9
2.3.2 Etiologi Luka Bakar	10
2.3.3 Klasifikasi Luka Bakar	11
2.3.4 Patofisiologi Luka Bakar	13
2.3.5 Penatalaksanaan Luka Bakar	14
2.3.6 Proses Kesembuhan Luka Bakar	15
2.3.7 Faktor Pengaruh Kesembuhan Luka	20
2.4 Fibroblas	21
2.4.1 Definisi	21
2.4.2 Manfaat	24
2.4.3 <i>Fibroblas Growth Factor-2 (FGF-2)</i>	25
2.5 <i>Rajungan (Portunus pelagicus)</i>	26
2.5.1 Klasifikasi	26

2.5.2 Morfologi Rajungan	27
2.5.3 Kandungan Cangkang Rajungan	28
2.6. Kitosan	29
BAB 3.KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	32
3.2 Hipotesis	35
BAB 4.METODE PENELITIAN	
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	36
4.2 Alat dan Bahan	36
4.3. Tahapan Penelitian	37
4.3.1 Rancangan Penelitian	37
4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian	38
4.3.3 Variabel Penelitian	39
4.4. Prosedur Kerja	39
4.4.1 Persiapan Hewan Coba.....	39
4.4.2 Prosedur Esktraksi Kitosan Cangkang Rajungan.....	40
4.4.3 Pembuatan Salep Kitosan Cangkang Rajungan.....	41
4.4.4 Pembuatan Luka Bakar Pada Tikus	42
4.4.5 Terapi Salep Cangkang Rajungan	43
4.4.6 Pembuatan Preparat Histologi Kulit.....	43
4.4.7 Perhitungan Jumlah Sel Fibroblas Kulit.....	44
4.4.8.Prosedur Imunohistokimia dan Perhitungan Ekspresi FGF-2	45
4.4.9 Analisa Data	46
BAB 5.HASIL DAN PEMBAHASAN	
5.1. Tikus Pasca Diinduksi Luka Bakar Derajat II dalam.....	47
5.2. Efek Pemberian Ekstrak Cangkang Rajungan (<i>Portunus pellagicus</i>) padaTikus (<i>Rattus norvegicus</i>) yang diinduksi Luka Bakar terhadap Ekspresi FGF-2.....	49
5.3. Efek Pemberian Ekstrak Cangkang Rajungan (<i>Portunus pellagicus</i>) pada Tikus (<i>Rattusnorvegicus</i>) yang diinduksi Luka Bakar terhadap Jumlah Sel Fibroblas.....	57
BAB 6.KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	64
6.2 Saran	64
DAFTAR PUSTAKA	65
LAMPIRAN	73

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Data fisiologiskusputih (<i>Rattusnorvegicus</i>)	6
2.2 Klasifikasi Luka Bakar	11
2.3Komposisi Kimia Limbah Cangkang Rajungan	28
5.1 Data JumlahEkspresi FGF-2 KelompokPerlakuanSalepKitosan danKelompokKontrolBioplasentonHari ke-1,3, dan 7.....	52
5.2 Data Jumlah Sel Fibroblas Kelompok Perlakuan Salep Kitosan dan Kelompok Kontrol Bioplasenton Hari ke-1,3, dan 7.....	58



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Struktur Lapisan Kulit	8
2.2. Zona Luka Bakar	14
2.3. Morfologi Sel Fibroblas dan Fibrosit	23
2.4. Preparat Histologi Sel Fibroblas.....	23
2.5. Rajungan (<i>Portunus pelagicus</i>)	27
2.6. Struktur Kimia Kitosan	29
5.1. Gambaran makroskopis proses kesembuhan luka bakar derajat II dalam pada hari ke-1, ke-3, dan ke-7	48
5.2. Ekspresi FGF-2 Kulit Tikus hari ke-1, ke-3 dan hari ke-7 pada lapisan dermis	51
5.3. Diagram perbandingan rata-rata ekspresi FGF-2 pada kelompok terapi salep kitosan dengan control bioplasenton pada hari ke-1, ke-3 dan ke-7.....	53
5.4. Diagram perbandingan rata-rata jumlah sel fibroblas pada kelompok Terapi salep kitosan dengan kontrol bioplasenton pada hari ke-1, ke-3 dan ke-7.....	58
5.5. Histologi Lapisan Dermis Kulit Tikus hari ke-1, ke-3, dan ke 7	60

DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG

<u>Simbol/singkatan</u>	<u>Keterangan</u>
%	Persentase
m ²	Meter kubik
mm	Milimeter
g	Gram
°C	Derajat Celcius
MMP	MatriksMetaloproteinase
REK	Retikulum Endoplasma Kasar
LMW	Low Molecule Weight
HMW	Hight Molecule Weight
mmHg	Milimeter Merkuri <i>Hydragyrum</i>
g/dL	Gram per desiliter
mg/dL	Miligram per desiliter
mL	Mililiter
NaCl	Natrium Klorida
CaCO ₃	Kalsium Karbonat
MgCO ₃	Magensium Karbonat
HE	Hematoksilen-Eosin
IHK	Imunohistokimia
BNF	<i>BufferNaturalFormaline</i>
PDGF	<i>Platelet-Derived growth factor</i>
EGF	<i>Epidermal growth factor</i>
KGF	<i>Keratinosit growth factor</i>
TNF	<i>Tumor necrosis factor</i>
TGF α	<i>Transforming growth factor α</i>
TGF β	<i>Transforming growth factor β</i>
VEGF	<i>Vascularendotelial growth factor</i>
IL-1	Interleukin-1
PAF	<i>Insulinlike growth factor-1</i>
FGF-2	<i>Fibroblast growth factor-2</i>
PMN	Polimorfonuklear
FKH	Fakultas Kedokteran Hewan
UB	Universitas Brawijaya
ANOVA	<i>One Way Analysis of Variance</i>
RAK	Rancangan Acak Kelompok

BAB IPENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kulit merupakan indra peraba yang menerima rangsangan nyeri, panas, dingin dan sebagainya (Eroschenko, 2003). Kulit terdiri atas 3 lapisan, yaitu epitel yang disebut epidermis, jaringan pengikat yang disebut dermis atau korium, dan sub-kutis atau hipodermis (Goeser, 2008). Kulit memiliki peran penting dalam homeostasis dan pencegahan invasi dari mikroorganisme oleh sebab itu kulit pada umumnya perlu ditutup segera setelah terjadi kerusakan (Jayakumar *et al.*, 2011).

Kerusakan kulit salah satunya disebabkan oleh suhu pada kasus luka bakar. Luka bakar atau dalam istilah lain disebut dengan *combustion* atau *burn injury* adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh yang disebabkan karena perubahan suhu yang tinggi, sengatan listrik, ledakan, maupun terkena bahan kimia (Smeltzer *et al.*, 2010). Pada luka bakar terdapat beberapa tipe sesuai dengan tingkat keparahan luka, yaitu luka bakar derajat I, derajat II dan derajat III (Fira, 2009). Fisiologi proses kesembuhan luka secara alami akan melewati beberapa tahap, yaitu tahap haemostasis, tahap inflamasi, tahap proliferasi, dan tahap maturasi. (Majewska *et al.*, 2011).

Salah satu alternatif perawatan luka bakar dapat dilakukan dengan menggunakan bahan tambahan untuk pendukung proses kesembuhan, salah satunya adalah dengan pemberian salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*). Rajungan (*Portunus pelagicus*) merupakan salah satu komoditas ekspor andalan Indonesia, umumnya daging rajungan diekspor dalam

bentuk segar, beku ataupun kaleng. Hasil samping dari pengolahan rajungan ini berupa limbah cair, padat dan gas. Salah satu limbah padat dari pengolahan rajungan yaitu cangkang rajungan. Pemanfaatan limbah cangkang rajungan ini belum optimal (Multazam, 2000)

Kitin adalah bahan baku kitosan yang merupakan salah satu komponen penyusun utama limbah cangkang rajungan (Nurul, 2010). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa kitosan memiliki peran dalam proses penyembuhan luka, yaitu mempercepat infiltrasi sel inflamasi, merangsang angiogenesis, menginduksi pembentukan vaskular pada granulasi jaringan secara cepat, mempercepat regenerasi kulit, meniadakan pembentukan jaringan parut, mencegah purulensi, serta memiliki efek candidacidal dan baktericidal (Mori *et al.*, 2005). Kitosan dapat digunakan sebagai fabrikasi (pembentukan fibroblas) sehingga memicu peningkatan *fibroblast growth factor-2* (FGF-2) dengan mengaktifkan produksi sitokin yang akan mengaktifkan fibroblas di jaringan luka, dalam aplikasi sebagai bahan benang penutup luka dan substrat yang bersifat *biodegradable* untuk pertumbuhan epitel kulit (Pillai *et al.*, 2009).

Pemberian terapi kitosan dalam penelitian ini berupa sediaan salep. Penggunaan salep dapat memungkinkan kontak dengan tempat aplikasi lebih lama sehingga pelepasan zat aktif akan lebih maksimal. Selain itu sediaan salep juga lebih disukai karena lebih mudah, praktis, melindungi daerah yang terluka dari udara luar dan mempermudah perbaikan kulit (Tjay dan Rahardja, 2002).

Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa kitosan memiliki efek positif yang signifikan terhadap penutupan luka bakar secara kimiawi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Salep kitosan mempunyaipengaruh mempercepat waktu sembuh danmeningkatkan persentase penyembuhan luka bakarkimiawi. Pengaruh paling signifikan adalah padakelompok salep kitosan 5% (Aditya dkk., 2012). Namun hingga kini belum ada penelitian mengenai pengambilan ekstrak kitosan dari limbah cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) terhadap penyembuhan luka bakar derajat II dalam secara mekanik.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini, yaitu :

1. Apakah pemberian terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*)5% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar memberikan efek peningkatan terhadap ekspresi FGF-2?
2. Apakah pemberian terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*)5% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar memberikan efek peningkatan terhadap sel fibroblas?

1.3 Batasasan Masalah

1. Cangkang rajungan yang digunakan adalah cangkang *Portunus pelagicus* dari limbah produksi pengolahan rajungan di Madura.
2. Hewan model yang digunakan adalah tikus jantan (*Rattus norvegicus*) dewasa galur Wistar umur 2-3 bulan dengan berat badan 150-200 g. Penggunaan hewan coba sudah mendapatkan layak etik dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya No. 942-KEP-UB.

3. Induksi luka bakar dilakukan melalui kontak langsung dengan agen termal berupa plat besi yang telah dimasukkan ke dalam air mendidih selama 10 menit dan dilekatkan pada kulit selama 15 detik sehingga dihasilkan luka bakar derajat II dalam.
4. Dosis terapi diberikan secara topikal dengan konsentrasi salep kitosan ekstrak kitosan cangkang rajungan 5%.
5. Variable yang diamati adalah ekspresi FGF-2 dan sel fibroblas pada luka.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini, yaitu :

1. Mengetahui pemberian terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar memberikan efek peningkatan terhadap ekspresi FGF-2.
2. Mengetahui pemberian terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar memberikan efek peningkatan terhadap sel fibroblas.

1.5 Manfaat Penelitian

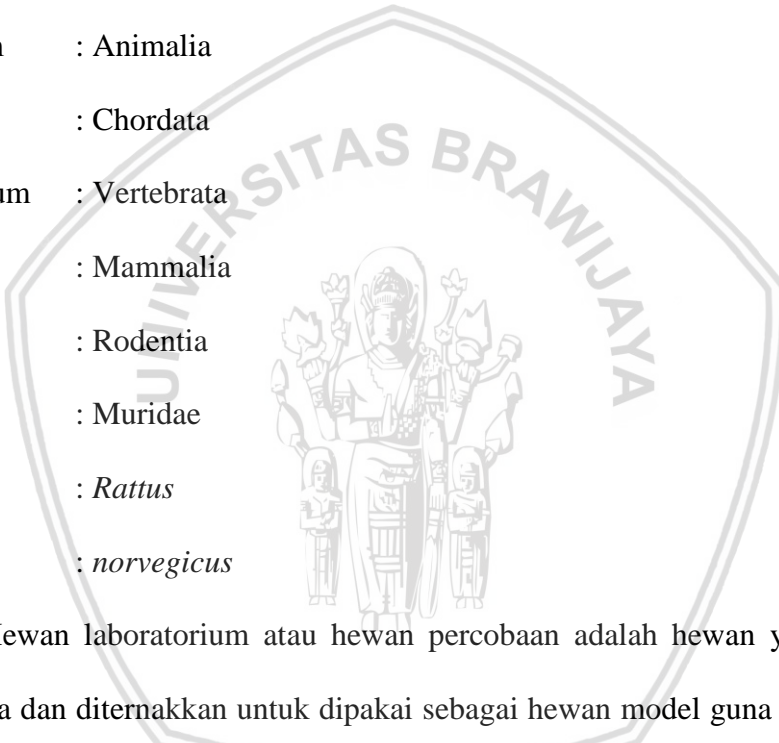
Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi tentang pengaruh terapi pemberian salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) 5% terhadap ekspresi FGF-2 dan jumlah sel fibroblas dalam kecepatan proses kesembuhan luka bakar derajat II dalam pada hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*).

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tikus (*Rattus norvegicus*)

2.1.1 Klasifikasi

Menurut Krinke (2000) klasifikasi Tikus putih (*Rattus norvegicus*) adalah sebagai berikut:



Kingdom	: Animalia
Phylum	: Chordata
Subphylum	: Vertebrata
Class	: Mammalia
Order	: Rodentia
Family	: Muridae
Genus	: <i>Rattus</i>
Species	: <i>norvegicus</i>

Hewan laboratorium atau hewan percobaan adalah hewan yang sengaja dipelihara dan ditenakkan untuk dipakai sebagai hewan model guna mempelajari dan mengembangkan berbagai macam bidang ilmu dalam skala penelitian atau pengamatan laboratorium. Tikus termasuk hewan mamalia, oleh sebab itu dampaknya terhadap suatu perlakuan mungkin tidak jauh berbeda dibanding dengan mamalia lainnya. Selain itu, penggunaan tikus sebagai hewan percobaan juga didasarkan atas pertimbangan ekonomis dan kemampuan hidup tikus hanya 2-3 tahun dengan lama reproduksi 1 tahun. Tikus putih yang memiliki nama ilmiah *Rattus norvegicus* adalah hewan coba yang sering dipakai untuk penelitian.

Hewan ini termasuk hewan nokturnal dan sosial. Salah satu faktor yang mendukung kelangsungan hidup tikus putih dengan baik ditinjau dari segi lingkungan adalah temperatur dan kelembaban. Temperatur yang baik untuk tikus putih yaitu 19° C – 23° C, sedangkan kelembaban 40-70 %. Data fisiologi dapat dilihat pada **Tabel 2.1**(Wolfenshon dan Lloyd, 2013).

Tabel 2.1 Data fisiologis tikus putih (*Rattus norvegicus*)

Nilai Fisiologis	Kadar
Berat tikus dewasa	Jantan 450-520 g
	Betina 250-300 g
Kebutuhan makan	5-10 g/ 100 g berat badan
Kebutuhan minum	10ml/100 g berat badan
Jangka hidup	3 – 4 tahun
Temperatur rektar	36 – 40 °C
Detak jantung	250 – 450 kali/menit
Tekanan darah	
Sistol	84 – 134 mmHg
Distol	60 mmHg
Laju pernafasan	70 – 115 kali/menit
Serum protein	5,6 – 7,6 g/dL
Albumin	3,8 – 4,8 g/dL
Globulin	1,8 – 3 g/dL
Glukosa	50 – 135 mg/dL
Nitrogen urea darah	15 – 21 mg/dL
Kreatinin	0,2 – 0,8 mg/dL
Total bilirubin	0,2 – 0,55 mg/dL
Kolesterol	40 – 130 mg/dL

2.2 Kulit

2.2.1 Definisi

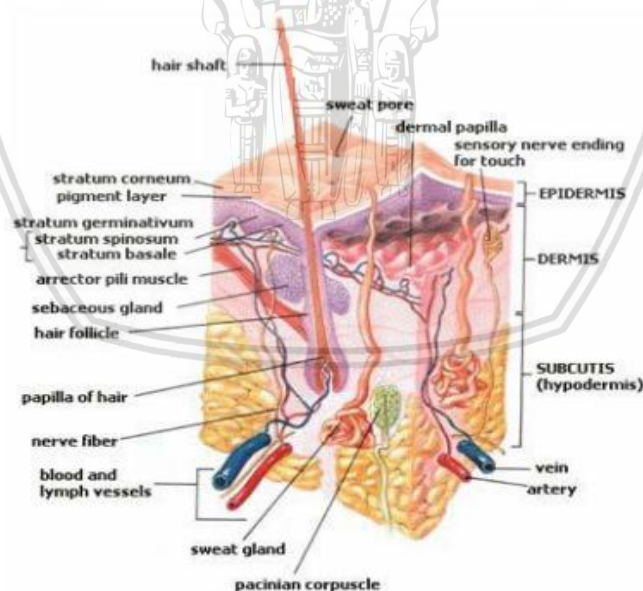
Kulit merupakan lapisan atau jaringan yang menutupi seluruh tubuh dan melindungi tubuh dari berbagai macam trauma baik trauma fisik maupun yang disebabkan oleh bakteri, virus, dan jamur (Effendi, 1999). Kulit juga merupakan salah satu panca indera yang terletak di permukaan tubuh sehingga berkaitan dengan letaknya yang ada dipermukaan tubuh maka kulit merupakan organ pertama yang terkena pengaruh tidak menguntungkan dari lingkungan (Santoso, 2001). Kulit adalah pembungkus elastis yang berfungsi melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan, serta merupakan alat tubuh yang memiliki ukuran terluas, yaitu 15% dari berat tubuh dan luas $1,50 - 1,75 m^2$. Rata-rata tebal kulit 1-2 mm. Paling tebal (6 mm) terdapat di telapak tangan dan kaki, sedangkan paling tipis (0,5 mm) terdapat di alat kelamin (Goeser, 2008).

2.2.2 Struktur

Integumen atau kulit merupakan jaringan yang menutupi permukaan tubuh, yang terdiri atas 3 lapisan, dapat dilihat pada **Gambar 2.1**, yaitu epitel yang disebut epidermis, jaringan pengikat yang disebut dermis atau korium, dan sub-kutis atau hipodermis (Goeser, 2008).

Epidermis terdiri dari sel epitel yang mengalami keratinisasi yang mengandung bahan lemak yang menjadikan kulit kedap air. Epidermis terdiri dari epitel pipih banyak lapis bertanduk, yang memiliki lima lapisan utama, yaitu stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum, dan stratum korneum. Dermis terdiri dari jaringan fibrosa yang lebih padat pada

bagian permukaan dibandingkan bagian dalam. Dermis terletak dibagian profunda dari epidermis. Merupakan porsi terbesar dari integumen, pembentuk struktur kulit, dan menjadi kekuatan kulit. Di dermis terdapat unsur-unsur lain, seperti pembuluh darah, pembuluh limfa, dan saraf. Terdapat juga folikel rambut, kelenjar keringat, sebaceus, dan *musculus arrector pili*. Hipodermis merupakan zona transisional diantara kulit dan jaringan adiposa di bagian bawah. Dalam keadaan patologis akan membentuk rongga-rongga berisi cairan (edema) atau udara (empisema). Padahal, secara histologi ini juga merupakan tempat deposisi lemak. Bagian hipodermis juga disusun oleh jaringan ikat agar tidak terjadi perlekatan dengan jaringan di profunda, sehingga kulit dapat bergerak bebas (Goeser, 2008).



Gambar 2.1. Struktur Lapisan Kulit (Goeser, 2008)

2.2.3 Fungsi

Secara alamiah kulit berusaha untuk melindungi diri dari serangan mikroorganisme dengan adanya tabir lemak diatas kulit yang diperoleh dari kelenjar lemak dan sedikit kelenjar keringat dari kulit serta adanya lapisan kulit luar yang berfungsi sebagai sawar kulit (Wasitaatmadja, 2007). Kulit juga berfungsi sebagai termoregulator dan memiliki fungsi proteksi terhadap kehilangan cairan, kerusakan mekanik maupun infeksi (Gandhi *et al.*, 2010).

2.3 Luka Bakar

2.3.1 Definisi

Luka bakar atau dalam istilah lain biasa disebut dengan *combustion injury* atau *burn injury* adalah rusaknya sebagian jaringan tubuh yang disebabkan karena perubahan suhu tinggi, sengatan listrik, ledakan, maupun kontak langsung dengan bahan kimia (Smeltzer and Bare, 2010). Luka bakar merupakan salah satu jenis trauma yang memiliki morbiditas dan mortalitas tinggi (Moenadjat, 2003). Luka bakar dapat terjadi pada kulit, selaput lendir, saluran pernapasan, dan saluran cerna. Gejalanya berupa sakit, bengkak, merah, melepuh karena permeabilitas pembuluh darah meningkat (Hasyim dkk., 2012).

Luka bakar mengakibatkan tidak hanya kerusakan pada kulit, tetapi juga memengaruhi seluruh sistem tubuh. Pasien yang mengalami luka bakar luas (*mayor*) akan menyebabkan ketidakmampuan tubuh dalam mengompensasi dan menyebabkan berbagai macam komplikasi sehingga memerlukan penanganan khusus (Moenadjat, 2003). Kulit dengan luka bakar akan mengalami kerusakan pada epidermis, dermis, maupun subkutan, tergantung faktor penyebab dan lama

paparan kulit dengan sumber panas. Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tingginya suhu dan lamanya paparan pada kulit (Syamsuhidayat dan Jong, 2005).

2.3.2 Etiologi Luka Bakar

Penyebab luka bakar adalah adanya kontak dan paparan langsung dengan agen termal, kimiawi, listrik, dan radiasi (Betz, 2009). Luka bakar dapat terjadi akibat adanya kontak dengan agen termal kering seperti api dan logam panas, serta agen termal lembab seperti cairan atau gas panas. Luka bakar juga dapat disebabkan oleh kontak dengan agen kimiawi berupa asam, basa, dan muatan organik. Zat kimiawi tersebut dapat mengakibatkan perubahan fisik pada area luka yang terbakar (Grace dan Borley, 2007). Selain agen termal dan kimiawi, luka bakar juga dapat disebabkan kontak dengan objek konduktif dalam saluran listrik yang mengalami korsleting. Trauma listrik serius berasal dari aliran listrik yang melewati jalur organ, otot, dan saraf atau vaskular (Muscari, 2005). Radiasi juga dapat menyebabkan terjadinya luka bakar yang disebabkan oleh paparan sinar matahari, terapi medis, serta agen radiasi kuat lain. Pada tahap awal radiasi mengakibatkan luka bakar dengan kedalaman sebagian tetapi dapat berlanjut ke trauma yang lebih dalam (Grace dan Borley, 2007).

2.3.3 Klasifikasi Luka Bakar

Klasifikasi luka bakar dibedakan berdasarkan tingkat kedalaman luka yang ditimbulkan. Kedalaman luka bakar ditentukan oleh tinggi suhu yang menyebabkan cedera, lama waktu paparan agen penyebab luka, serta tingkat ketebalan kulit (Kasten *et al.*, 2011). Klasifikasi luka bakar dapat dilihat pada **Tabel 2.2** berikut.

Tabel 2.2 Klasifikasi Luka Bakar (Jeschk *et al.*, 2007)

	Derajat 1	Derajat 2 (<i>partial thickness</i>)		Derajat 3 (<i>deep partial thickness</i>)
		Dangkal	Dalam	
Penyebab	Sinar matahari, air panas, kilat	Cairan panas	Benda panas	Cairan panas, kontak dengan kimiawi
Warna	Merah muda/merah	Merah muda	Merah pucat	Coklat tua, tampak vena
Permukaan	Kering	Lembap, terbentuk bula	Kering, terbentuk bula	Kering dan tidak elastik
Rasa nyeri	Nyeri	Nyeri	Sangat nyeri	Tidak berasa
Kedalaman	Epidermis	Epidermis dan sebagian dermis	Epidermis dan seluruh dermis	Epidermis, dermis, dan struktur lebih dalam

Berdasarkan tabel diatas luka bakar diklasifikasikan menjadi 3 tipe sesuai dengan tingkat kedalaman luka tersebut, yaitu derajat satu, derajat dua, dan derajat 3 (Betz, 2009).

- Derajat I (*Superficial*)

Luka bakar tipe derajat I terjadi di bagian permukaan kulit, hanya meliputi bagian epidermis. Manifestasi luka bakar ini yaitu, kulit tampak kemerahan disertai nyeri (Barbara et al., 2013). Luka bakar derajat 1 dapat disebabkan oleh kontak dengan waktu singkat dengan agen termal. Luka ini dapat sembuh dalam 3 hingga 7 hari dan tidak menimbulkan jaringan parut saat *remodeling* (Rizzo, 2001).

- Derajat II (*Partial thickness*)

Luka bakar derajat II terjadi di semua bagian epidermis dan sebagian dermis. Manifestasi luka ini yaitu, kulit tampak kemerahan, terdapat bulla, terjadi edema, dan nyeri berat (Barbara et al., 2013). Luka bakar ini disebabkan adanya kontak dengan agen termal, seperti tersiram air panas (Betz, 2009). Luka bakar derajat II dibedakan lagi menjadi luka bakar derajat II *superfisial parsial* atau dangkal dan luka bakar derajat II *deep parsial* atau dalam (Muscari, 2005).

a. Luka bakar derajat II dangkal (*Superfisial parsial*)

Manifestasi dari luka bakar tipe ini yaitu, permukaan kulit lembab, warna kulit merah memucat, terdapat edema dan lepuhan berisi cairan, dan nyeri. Luka bakar ini dapat sembuh dalam waktu kurang lebih 2 minggu tanpa terbentuk jaringan parut (Muscari, 2005).

b. Luka bakar derajat II dalam (*Deep parsial*)

Manifestasi dari luka bakar tipe ini yaitu, permukaan kulit kering, warna kulit putih cerah, terdapat edema, dan lepuhan berbentuk seperti kertas tisu yang rata dan kering dan nyeri sedang hingga berat apabila terjadi kontak dengan air ataupun udara. Luka ini dapat sembuh dalam waktu beberapa bulan dengan disertai terbentuknya jaringan parut (Muscari, 2005).

▪ Derajat III (*Full thickness*)

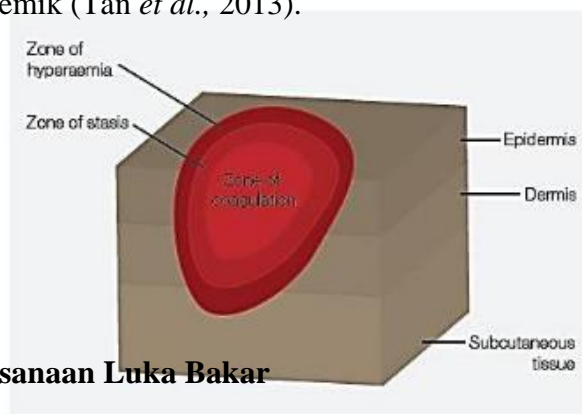
Kerusakan terjadi pada seluruh lapisan kulit termasuk tendon, syaraf, dan jaringan otot. Kulit akan tampak kering dan mungkin ditemukan bula berdinding tipis, dengan tampilan luka yang beragam dari warna putih, merah terang hingga tampak berwarna hitam seperti arang. Dapat disebabkan oleh kontak langsung dengan api. Nyeri yang dirasakan terbatas akibat hancurnya ujung saraf pada

dermis. Penyembuhan luka yang terjadi sangat lambat, terbentuk jaringan parut dan biasanya membutuhkan donor kulit (*Skin grafting*) (Barbara *et al.*, 2013).

2.3.4 Patofisiologi Luka Bakar

Hal pertama yang ditimbulkan oleh luka bakar adalah *shock* karena kaget dan kesakitan. Pembuluh kapiler disekitar area yang mengalami kontak dengan agen penyebab luka bakar akan mengakibatkan permeabilitas tinggi sehingga terjadi edema dan dapat merusak sel darah yang ada didalamnya sehingga dapat menimbulkan anemia. Terjadinya edema menyebabkan timbul bula yang mengandung elektrolit sehingga volume cairan intravaskuler berkurang (Agus P., 2014).

Terbentuk 3 zona pada kulit yang mengalami kerusakan akibat cedera luka bakar seperti tampak pada **Gambar 2.2**, zona pertama yaitu zona hiperemia yang disebabkan oleh peningkatan aliran darah akibat proses inflamasi. Zona kedua yaitu, zona stasis yang bersifat iskemik ditandai dengan menurunnya perfusi jaringan. Pada zona stasis jaringan masih berpotensi untuk dapat dilakukan penyelamatan (Nisanci *et al.*, 2010). Pada zona stasis dapat menyebabkan nekrosis jaringan dalam 48 jam jika tidak dilakukan pertolongan akibat dari hipoksia dan iskemik (Tan *et al.*, 2013).



2.3.5 Penatalaksanaan Luka Bakar

Gambar 2.2. Zona Luka Bakar (Rudall & Green, 2010)

Hal pertama yang harus dilakukan pada pasien luka bakar adalah menjauhkan dari agen penyebab kemudian siram dengan air. Proses koagulasi protein sel pada jaringan kulit yang mengalami luka bakar akan terus berlangsung walaupun telah dihindarkan dari agen penyebab luka bakar sehingga destruksi kulit tetap meluas. Proses tersebut dapat dihentikan dengan mendinginkan area kulit terbakar dan mempertahankan suhu dingin secepat mungkin setelah kulit terpapar langsung oleh agen penyebab luka bakar. Oleh karena itu disarankan pertolongan pertama pada pasien luka bakar adalah dengan merendam area kulit yang terbakar dengan air dingin selama kurang lebih 15 menit. Namun tindakan ini dianjurkan hanya pada pasien dengan luka bakar kurang dari 10% , karena dikhawatirkan akan menimbulkan hipotermia (Summer *et al.*, 2007).

Luka bakar dapat menimbulkan rasa nyeri dengan tingkat rasa sakit yang sesuai dengan tipe derajat dari luka bakar tersebut. Sehingga diperlukan pemberian analgetika dan sedatif untuk mengontrol serta meringankan rasa nyeri tersebut. Pada luka bakar superfisial, bagian syaraf masih utuh sehingga pergerakan maupun sentuhan akan memicu rasa nyeri. Sedangkan pada luka bakar dalam (*deep partial thickness*) sebagian syaraf bahkan hampir seluruh syaraf mengalami kerusakan, sehingga pasien tidak terlalu merasakan adanya rangsangan nyeri namun daerah sekeliling luka masih merespon terhadap rangsang nyeri (Summer *et al.*, 2007).

Perawatan luka juga merupakan salah satu tatalaksan yang sangat penting dalam penanganan luka bakar. *Cleansing* dan *debridement* harus selalu dilakukan secara rutin untuk mencegah terjadinya infeksi pada luka bakar. Bahan yang dapat

digunakan untuk membersihkan luka yaitu sabun, air bersih, clorhexidin, ataupun NaCl 0.9%. Setelah luka dibersihkan dapat diberi antibiotik topikal dan tutup dengan kasa steril untuk mengurangi resiko infeksi akibat bakteri. Hal tersebut dapat dilakukan dua kali dalam sehari serta mengganti balutan kasa (Kasten *et al.*, 2011).

2.3.6 Proses Kesembuhan Luka Bakar

Proses kesembuhan luka merupakan proses biologis jaringan tubuh dengan tujuan akhir kembalinya fungsi dan integritas jaringan seperti semula (Ama dkk., 2010). Proses kesembuhan luka tergantung pada jaringan kulit yang rusak serta penyebab dari luka tersebut. Menurut Majid (2013) fase kesembuhan luka terbagi menjadi 3 yaitu fase inflamasi, fase proliferasi atau epitelisasi, dan fase maturasi atau *remodelling*. Sedangkan menurut Suriadi (2004) fase penyembuhan dibagi menjadi 4 tahap, yaitu sebagai berikut.

1. Fase Koagulasi

Fase koagulasi merupakan fase yang berperan penting adalah platelet sebagai kontrol terjadinya pendarahan. Platelet merupakan sel kecil tanpa inti dalam darah yang berasal dari megakariosit sumsum tulang belakang. Platelet akan mengakibatkan pembuluh darah mengalami vasokonstriksi dan terjadi koagulasi. Fase ini berperan sebagai hemostasis dan pencegah perdarahan (Suriadi, 2004). Pada saat terjadi agregasi platelet memicu enzim spesifik dalam darah (Hageman faktor XII) sehingga terjadi koagulasi intrinsik. Ketika terjadi koagulasi intrinsik maka proenzim menjadi enzim aktif yang berpengaruh pada perubahan protrombin menjadi trombin kemudian trombin mengubah fibrinogen menjadi

fibrin. Selain terjadi koagulasi intrinsik pada saat homeostasis juga terjadi koagulasi ekstrinsik yang dipicu oleh lipoprotein dari jaringan yang rusak. Pada fase ini platelet juga membantu regenerasi jaringan yang rusak dengan melepaskan beberapa *growth factor* yaitu *transforming growth factor α* (TGF α), *transforming growth factor β* (TGF β), *platelet derived growth factor* (PDGF), *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet activating-factor* dan *insulinlike growth factor-1* (PAF) (Li et al., 2007). Pelepasan transforming growth factor tersebut akan berdampak pada edema dan awal fase inflamasi, nantinya VEGF akan mempengaruhi ekstrasvasi protein plasma untuk membentuk penyokong dengan mengaktifkan sel endotelial, leukosit dan sel epitelial (Suriadi, 2004).

2. Fase Inflamasi

Fase inflamasi bertujuan untuk menghilangkan jaringan yang rusak dan mencegah adanya infeksi, ditandai dengan peningkatan permeabilitas vascular oleh trombin yang diikuti oleh hemostasis dan sekresi sitokin kemotaksin yang memudahkan terjadinya migrasi sel. Sitokin akan memicu terbentuknya kolagen, kolagen akan mengaktifkan kaskade pembekuan, baik jalur intrinsik dan ekstrinsik, yang berujung pada pembentukan bekuan fibrin dan hemostasis yang memulai fase inflamasi. Bekuan fibrin berfungsi sebagai perancah untuk sel yang akan datang, seperti neutrofil, monosit, fibroblas, dan sel endotel. Sel leukosit dan makrofag polimorfonuklear adalah jenis sel yang dominan selama tahap awal ini. Fibrin beku atau matriks sementara juga berfungsi untuk memusatkan sitokin dan

faktor pertumbuhan yang dilepaskan oleh trombosit, trombin, dan fibronectin(Prasetyono, 2009).

Neutrofil merupakan penangkap sinyal pertama dari adanya *distress signal* dan sinyal kemotaksis oleh sitokin yang masuk dalam bekuan fibrin. Kemudian pembuluh darah disekitar luka akan mengalami vasodilatasi yang menyebabkan tertariknya neutrofil ke daerah cedera oleh interleukin (IL-1), TNF α , *platelet factor-4* (PF-4), TGF- β , *platelet-derived growth factor* (PDGF), dan "produk bakteri". Leukosit PMN ini mulai membersihkan bakteri dan serpihan seluler. Monosit akan tertarik ke daerah yang cedera dan berubah menjadi makrofag sekitar 48 sampai 72-96 jam setelah cedera, kemudian makrofag akan memfagosit debris dan bakteri. Makrofag juga penting untuk transisi ke fase proliferasi karena akan menengahi angiogenesis, fibroplasia, dan mensintesis oksida nitrat. Singkatnya, proses penyembuhan dimulai dengan hemostasis, deposisi trombosit, dan interaksi mediator yang mudah larut dan faktor pertumbuhan dengan matriks ekstraselular(Prasetyono, 2009).

3. Fase Proliferasi

Fase proliferasi ditandai dengan mulai terbentuk jaringan granulasi pada luka yang terdiri dari jaringan kapiler baru, fibroblas, dan makrofag. Fase ini akan dimulai pada hari ke 3 sampai ke 7 bersamaan dengan berkurangnya fase inflamasi hingga hari ke 146 sampai 215 setelah terjadi luka. Pada fase ini terjadi proses angiogenesis yang ditandai dengan migrasi sel endotel dan pembentukan kapiler darah. Migrasi sel endotel dan pembentukan kapiler merupakan respon dari pelepasan faktor pertumbuhan selama fase inflamasi seperti PDGF, TGF- β ,

dan insulin. Selain itu juga terjadi pelepasan faktor pertumbuhan FGF-2 oleh jaringan ikat, dan VEGF oleh makrofag. Pembuluh darah baru pada proses angiogenesis terbentuk oleh matriks kolagen yang berasal dari fibroblas. PDGF dan epidermal growth factor (EGF) merupakan faktor pertumbuhan berasal dari trombosit dan makrofag yang berfungsi memberikan sinyal pada fibroblas untuk bermigrasi pada area sekitar luka, kemudian fibroblas mensintesis matriks sementara yang tersusun dari tipe kolagen-III, glikosaminoglikan, dan fibronectin yang menyediakan platform untuk migrasi keratinosit. Jenis fibroblas lainnya adalah "fibroblas luka" yang sudah ada di lokasi luka. Jenis fibroblas ini akan berubah menjadi myofibroblas yang berperan untuk kontraksi luka. Myofibroblas mengandung mikrofilamen aktin intraselular yang mampu menghasilkan gaya dan kontraksi matriks. Myofibroblas merapatkan luka melalui interaksi integrin spesifik dengan matriks kolagen (Prasetyono, 2009).

Beberapa saat setelah terjadinya luka epitelisasi mulai akibat dirangsang oleh sitokin inflamasi IL-1 dan TGF α sehingga meningkatkan ekspresi keratinosit *growth factor* (KGF) pada fibroblas. Fibroblas kemudian akan mensintesis dan mengeluarkan *keratinosit growth factor* (KGF)-1, (KGF)-2, dan IL-6 yang merangsang keratinosit tetangga untuk bermigrasi di daerah luka, berkembang dan berdiferensiasi di epidermis. Setelah itu, epitelisasi ditandai dengan replikasi dan migrasi sel epitel di tepi kulit (Prasetyono, 2009).

4. Fase Pematangan (*Remodelling*)

Merupakan tahap akhir proses kesembuhan pada luka dan membutuhkan waktu yang cukup lama jika dibandingkan dengan fase yang lain, karena fase ini

merupakan proses pematangan dan pemulihan yang melibatkan *remodeling* jaringan granulasi yang sedang berlangsung di bawah lapisan epitel yang baru terbentuk dan meningkatkan kekuatan tarik luka. Fase ini dimulai bersamaan dengan fase proliferasi pada hari ke 81 – 215 hingga satu tahun kemudian. Karakteristik pada fase ini adalah adanya endapan kolagen. Kolagen tipe III yang diproduksi dan diendapkan oleh fibroblas selama fase proliferaatif akan digantikan oleh kolagen tipe I selama beberapa bulan ke depan melalui proses degradasi kolagen tipe III yang lambat. Degradasi dimediasi melalui matriks metaloproteinase (MMP) yang disekresikan oleh makrofag, fibroblas, dan sel endotel. Kekuatan tarik (kekuatan untuk melawan pemecahan) bekas luka penyembuhan membaik secara perlahan, mencerminkan omset sub tipe kolagen dan meningkatkan ikatan silang kolagen. Pada 3 minggu, awal fase ini, luka hanya memiliki sekitar 20% sampai 30% kekuatan kulit normal, dan pada akhirnya hanya memiliki kekuatan 70% sampai 80% pada kekuatan normal pada akhir fase *remodelling* (Broughton, 2006).

Tahap akhir ini juga ditandai dengan keseimbangan antara pengendapan kolagen dan degradasinya. Bila deposisi atau sintesis kolagen terganggu, maka akan membahayakan kekuatan tarik jaringan parut. Bekas luka atrofi mungkin merupakan hasil akhir setelah fase ini selesai. Sebaliknya, bila degradasi kolagen terganggu atau sintesis berlebihan, jaringan parut bisa menjadi bekas luka hipertrofik atau bahkan keloid. Kondisi ideal akan menjadi keseimbangan antara degradasi dan sintesis atau pengendapan kolagen untuk menghasilkan jaringan parut yang normal (Broughton, 2006).

2.3.7 Faktor Pengaruh Kesembuhan Luka

Proses kesembuhan dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor tertentu. Berikut merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi proses kesembuhan luka :

1. Usia

Proses penyembuhan luka akan lebih lama seiring dengan peningkatan usia. Faktor yang mempengaruhi adalah jumlah elastin yang menurun dan proses regenerasi kolagen yang berkurang akibat penurunan metabolisme sel. Sel kulit pun berkurang elastisitasnya diakibatkan dari cairan vaskularisasi turun pada kulit dan berkurangnya kelenjar lemak yang semakin mengurangi elastisitas kulit. Kulit yang tidak elastis akan mengurangi kemampuan regenerasi sel ketika luka akan dan mulai menutup sehingga dapat memperlambat penyembuhan luka (Nugroho, 2008).

2. Nutrisi

Asupan nutrisi yang seimbang sangatlah penting untuk mempercepat proses kesembuhan luka. Beberapa asupan nutrisi seperti protein, vitamin A, vitamin C dan vitamin E membantu dalam proses kesembuhan luka. Defisiensi vitamin A dapat menyebabkan menurunnya jumlah makrofag sehingga dapat terjadi infeksi, retardasi epitelisasi, dan terganggunya sintesis kolagen. Defisiensi vitamin E dapat mengganggu proses pembentukan kolagen. Sedangkan defisiensi vitamin C dapat mengganggu proses sintesis kolagen sehingga memperlambat waktu penyembuhan luka (Suriadi, 2004).

3. Perawatan luka

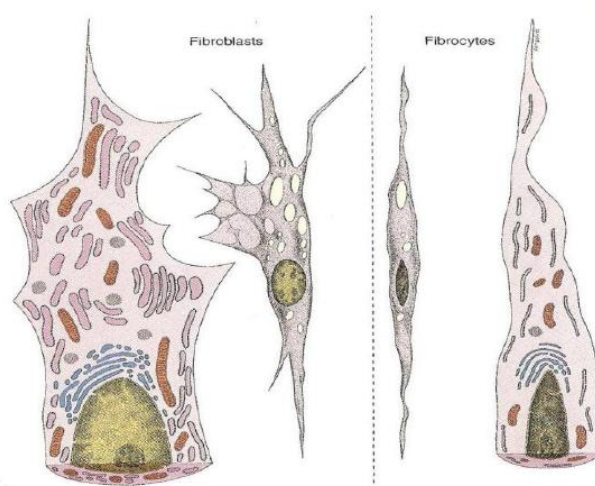
Penyembuhan terhadap luka terkait dengan bagaimana perawatan luka meliputi kebersihan, dan penatalaksanaan luka yang baik, yaitu bagaimana dapat mengembalikan regenerasi sel sampai fungsi organ tubuh kembali pulih, ditunjukkan dengan tanda-tanda dan respon yang berurutan dimana sel secara bersama-sama berinteraksi, melakukan tugas dan berfungsi secara normal. Idealnya luka yang sembuh kembali normal secara struktur anatomi, fungsi dan penampilan.

2.4 Fibroblas

2.4.1 Definisi

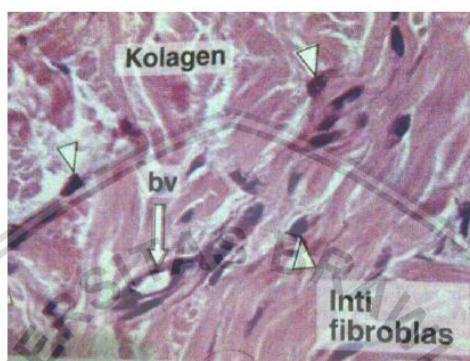
Fibroblas (L. fibra, serat: Yunani. blatos, benih: Latin) adalah sel yang menghasilkan serat dan substansi dasar amorf jaringan ikat biasa. Fibroblas merupakan sel yang banyak ditemui pada jaringan ikat salah satunya pada kulit. Sel fibroblas terlibat secara aktif dalam pembentukan serat terutama serat kolagen dan matriks amorf ekstraseluler. Selain itu fibroblas menghasilkan serat-serat retikulin, elastin, glikosamin, dan glikoprotein dari substansi interseluler amorf. Fibroblas terlibat dalam pertumbuhan normal, proses penyembuhan luka dan aktifitas fisiologis dari tiap jaringan dan organ dalam tubuh. Fungsi utama fibroblas adalah menjaga integritas jaringan pendukung dengan cara mengatur perubahan umur matriks ekstraseluler secara berkesinambungan. Sel fibroblas mudah untuk dikultur karena memiliki kemampuan tumbuh dan melekat yang tinggi dan memiliki regenerasi cepat (Freshney *et al.*, 2005).

Sel fibroblas yang sudah tidak aktif disebut sel fibrosit. Fibrosit bersifat heterokhromatik dan hanya di kelilingi oleh sedikit sitoplasma berwarna pucat. Pengamatan sel fibrosit dengan menggunakan mikroskop elektron memperlihatkan jumlah retikulum endoplasma kasar (REK) yang sedikit, dengan kompleks golgi yang kecil. Sedangkan sel fibroblas berukuran sedikit lebih besar di bandingkan sel fibrosit dengan inti yang bersifat *eukhromatik*. Sitoplasmanya berbentuk irregular dengan beberapa penjururan. Pada pengamatan dengan mikroskop elektron akan terlihat REK dalam jumlah banyak dan kompleks golgi yang besar pada sitoplasma. Struktur ini mengindikasikan produksi matriks jaringan ikat lebih banyak di banding fibrosit. Sel fibroblas dapat berkembang langsung dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi atau dapat juga berasal dari sel fibrosit tergantung pada pengaruh faktor lingkungan (Erma, 2015). Morfologi sel fibroblas dan fibrosit dapat dilihat pada **Gambar 2.3**, dimana sel fibroblas tersebut berbentuk gepeng, memiliki cabang panjang dan langsing, dari samping terlihat berbentuk gelendong fusiform.



Gambar 2.3 Morfologi sel fibroblas dan fibrosit (Junquera, 2007)

Pada preparat histologis **Gambar 2.4**, dari beberapa pewarnaan, inti sel fibroblas berbentuk pipih lonjong dengan membran tipis halus disertai satu atau dua anak inti yang terlihat jelas serta sedikit granula kromatin halus dan sitoplasma eosinofilik (Fawcet, 2002).



Gambar 2.4 Preparat histologis sel fibroblas (Fawcet, 2002)

Peningkatan jumlah fibroblas dapat dilihat pada fase proliferasi pada saat proses kesembuhan luka. Proliferasi dari fibroblas menentukan hasil akhir dari penyembuhan luka. Fibroblas akan menghasilkan kolagen yang akan menautkan luka, dan fibroblas juga akan mempengaruhi proses reepitelisasi yang akan menutup luka. Proliferasi fibroblas dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu PDGF, FGF-2, TGF β dan sel radang, IL-1, TNF. Faktor tersebut berkaitan dan saling mempengaruhi. PDGF, FGF-2, TGF β dihasilkan oleh makrofag teraktivasi dan sel endotel (Robin, 2007).

2.4.2 Manfaat Fibroblas

Fibroblas memiliki peranan yang sangat besar selama proses kesembuhan luka, dimana fibroblas bertanggung jawab dalam persiapan menghasilkan produk berupa struktur protein yang akan digunakan selama proses kesembuhan luka

berlangsung pada rekonstruksi jaringan baru. Pada keadaan normal, aktivitas pembelahan fibroblas sangat jarang terlihat, namun ketika terjadi perlukaan sel ini terlihat lebih aktif dalam memproduksi matriks ekstraseluler (Yusuf, 2014). Fibroblas mensintesis komponen penyusun matriks ekstraseluler seperti kolagen, retikuler, elastin, dan beberapa makromolekul anionik seperti glikosaminoglikans dan proteoglikan, serta glikoprotein multiadesif seperti laminin dan fibronectin, yang berfungsi mendorong perlekatan sel pada substrat. Selain itu, fibroblas juga mensekresikan *growth factor* yang dapat menstimulasi proliferasi sel dan menghambat proses differensiasi (Djuwita dkk., 2010).

Salah satu faktor yang mempengaruhi pertumbuhan jaringan adalah karena adanya sel keratinosit, dimana sel tersebut menstimulasi fibroblas untuk mensintesis growth factor. *Growth factor* yang dihasilkan akan menstimulasi proliferasi dari sel keratinosit dibawah kontrol parakrin. Fibroblas kemudian memperoleh fenotip khusus yaitu miofibroblas (Werner *et al.*, 2007). Miofibroblas merupakan fibroblas khusus mirip dengan sel otot polos, mengandung mikrofilamen aktin dan miosin yang berperan dalam penyambungan komponen ekstraseluler sel. Sehingga aktivitas sel-sel tersebut berperan pada penutupan luka (Porter, 2007).

2.4.3 Fibroblast Growth Factor-2 (FGF-2)

FGF-2 merupakan salah satu faktor pertumbuhan yang berperan dalam proses angiogenesis. Fase angiogenesis adalah fase pembentukan kapiler darah pada saat tahap proliferasi proses kesembuhan luka. FGF-2 adalah anggota prototipe dari 13 faktor pertumbuhan yang mengikat heparin. FGF-2 menginduksi

fenotip angiogenik yang terdiri peningkatan proliferasi, migrasi, produksi proteinase, dan ekspresi integrin spesifik. FGF-2 juga mengatur panel seluler tanggapan, seperti *remodeling* tulang, kelangsungan hidup sel neuron, perkembangan paru (Kanda *et al.*, 2004).

Dalam artikel penelitian yang dilakukan oleh Sadanori (2013) pada cairan amniotik manusia, PDGF dan FGF-2 memiliki fungsi merangsang proliferasi fibroblas kulit. FGF-2 merupakan sebuah glikoprotein kira-kira 17 Kd pada rekombinan manusia, diaktifkan melalui 7 selaput reseptor yang berbeda dan bermanfaat dalam menghilangkan jaringan parut bekas luka dan juga memperpendek waktu penyembuhan luka serta membentuk keseragaman warna pada kulit *split thickness grafting* pascaoperasi. FGF-2 adalah mitogen yang kuat, dan pertamanya dinamai karena kemampuannya untuk menginduksi proliferasi fibroblas. FGF-2 juga menunjukkan potensi perekrutan leukosit terhadap peradangan di kulit untuk memperbaiki dermal. Pada kultur *in vivo*, FGF-2 telah terdeteksi di lamina basal kapiler darah, terutama di lokasi percabangan, dan di endotel kapiler

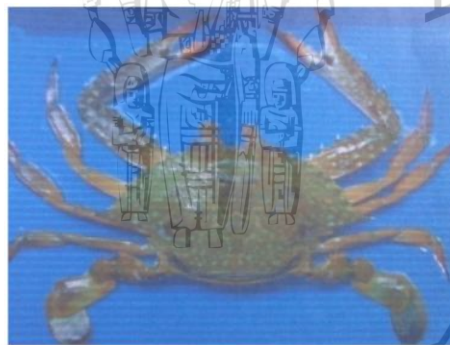
FGF-2 adalah glikoprotein multipotential yang mempromosikan banyak sel seperti fibroblas dermal, keratinosit, sel endotel, dan melanosit. Karena karakteristik mitogenik dan angiogeniknya, FGF-2 dapat menyebabkan remodeling jaringan, penyembuhan luka dan neovaskularisasi. FGF-2 efisien menghambat diferensiasi terminal ke myofibroblast, yang merupakan mediator terbentuknya keloid dan bekas luka hipertrofik (Sadanori, 2013).

2.5 Rajungan (*Portunus pelagicus*)

2.5.1 Klasifikasi

Klasifikasi lengkap dari rajungan **Gambar 2.5** menurut Ermawati dkk. (2009) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
 Filum : Arthropoda
 Kelas : Crustacea
 Ordo : Decapoda
 Famili : Portunidae
 Genus : Portunus
 Spesies : *Portunus pelagicus*



Gambar 2.5 Rajungan (*Portunus pelagicus*)(Sunarto, 2011).

Berdasarkan sistematika krustase (*Crustacea*), dalam kelompok kepiting (*Brachyura*) terdapat satu suku (famili) yang bernama Portunidae, ke dalam suku inilah kepiting bakau dan rajungan dikelompokkan. Nama umum yang dipakai untuk jenis-jenis yang termasuk dalam suku Portunidae adalah “swimming crabs” atau kepiting perenang, walaupun tidak semua jenis yang ada di dalamnya bisa berenang (Sunarto, 2011).

2.5.2 Morfologi Rajungan

Tubuh crustacean dibagi dalam bagian thoraks dan abdomen. Pada beberapa crustacea yang umum dijumpai seperti udang, lobster dan jenis-jenis kepiting lain, bagian thoraks ditutupi oleh sebuah karapas yang melindungi permukaan dorsal tubuhnya. Rajungan dengan mudah dapat dikenali dari bentuk tubuhnya yang memiliki karapas yang lebar. Karapas rajungan berbentuk semitriangular dengan ornamen berbentuk titik-titik putih. Karapas rajungan dibagi menjadi beberapa bagian. Ornamen pada bagian-bagian tersebut dapat menjadi ciri kematangan kelaminnya. Pada bagian dorsal tubuh rajungan terdapat toraks (thoracic sterna) dan lipatan abdomen yang berwarna putih. Bentuk lipatan abdomen berbeda antara jantan dan betina (Sunarto, 2011).

Rajungan memiliki tanda seksual dimorfisme atau perbedaan bentuk antara jantan dan betina. Umumnya rajungan jantan memiliki ukuran lebih besar dari yang betina. Jenis kelamin rajungan dapat dikenali pula dengan ornamen pada karapasnya. Ornamen putih pada rajungan jantan lebih jelas dan besar dibandingkan yang betina. Pada rajungan betina memiliki ornamen berupa bentuk titik-titik putih kecil dan tidak jelas. Warna biru lebih terlihat pada rajungan jantan yang mendominasi hampir seluruh tubuh bagian dorsalnya terutama pada kaki dan capitnya. Rajungan betina memiliki warna karapas hijau kekuningan. Pada bagian ventral, tempat abdomen berada, warna tubuhnya putih baik pada jantan maupun betina (Sunarto, 2011).

2.5.3 Kandungan Cangkang Rajungan

Cangkang merupakan bagian terkeras dari semua komponen rajungan dan selama ini baru dimanfaatkan sebagai pakan ternak atau pupuk organik mengingat kandungan mineral, terutama kandungan kalsiumnya cukup tinggi. Cangkang rajungan mengandung kitosan, protein, CaCO_3 serta sedikit MgCO_3 dan pigmen astaxanthin (Hafiluddin, 2003). Komposisi kimia limbah cangkang rajungan beserta daging yang masih melekat pada cangkang dapat dilihat pada **Tabel 2.3**.

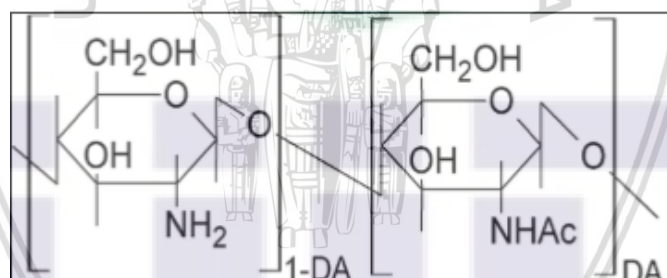
Tabel 2.3. Komposisi Kimia Limbah Cangkang Rajungan (Matheis *et al.*, 2012)

Zat	Bobot (g)	Kadar (%)
Protein	43,38	43,38
Mineral	2,71	2,71
Zat warna	3,70	3,70
Kittin	50,21	50,21
Kitosan	22,6	22,6

Srijanto (2003) menjelaskan bahwa golongan krustase seperti rajungan pada umumnya mengandung masih mengandung senyawa kimia cukup banyak, diantaranya ialah protein 30 – 40 %; mineral (CaCO_3) 30 – 50 %; dan khitin 20 – 30 %. Khitin yang terkandung dalam cangkang rajungan tersebut dapat diproses lebih lanjut menghasilkan khitosan yang mempunyai banyak manfaat di bidang industri.

2.6 Kitosan

Kitosan adalah senyawa polisakarida yang tersusun oleh glukosamin dan N-Asetilglukosamin serta merupakan turunan dari kitin dengan proses deasetilisasi cangkang hewan jenis crustacea seperti udang, kepiting dan rajungan (Moe *et al.*, 2008). Struktur kitosan seperti tampak pada **Gambar 2.6**, kitosan merupakan senyawa kitin yang telah dihilangkan gugus asetil sehingga menjadi gugus bebas. Selain itu kitosan memiliki kemampuan untuk mengikat lipid dan asam empedu karena memiliki muatan positif yang dapat mengikat muatan negatif. Kitosan memiliki sifat tidak toksik, biodegradabel, biokompatibel, dan dapat mengabsorpsi air, kitosan juga bersifat antifungal, antiviral dan antibakteri (Dutta *et al.*, 2004).



Gambar 2.6. Struktur kimia kitosan (Dutta *et al.*, 2004)

Pada penelitian sebelumnya menggunakan kitosan pada beberapa jenis hewan menunjukkan bahwa kitosan memiliki efek meningkatkan homeostasis, memfasilitasi osteogenesis, dan mempercepat regenerasi jaringan (Moe *et al.*, 2008). Kitosan juga telah diteliti mampu meningkatkan proliferasi sel, meningkatkan kolagenisasi, dan memicu reepitelisasi pada kulit yang terluka. Kitosan mempunyai daya antiinfeksi yaitu kemampuan anti bakteri dan antifungi (Burkatovskaya *et al.*, 2006). Kitosan mampu menghentikan perdarahan pada fase

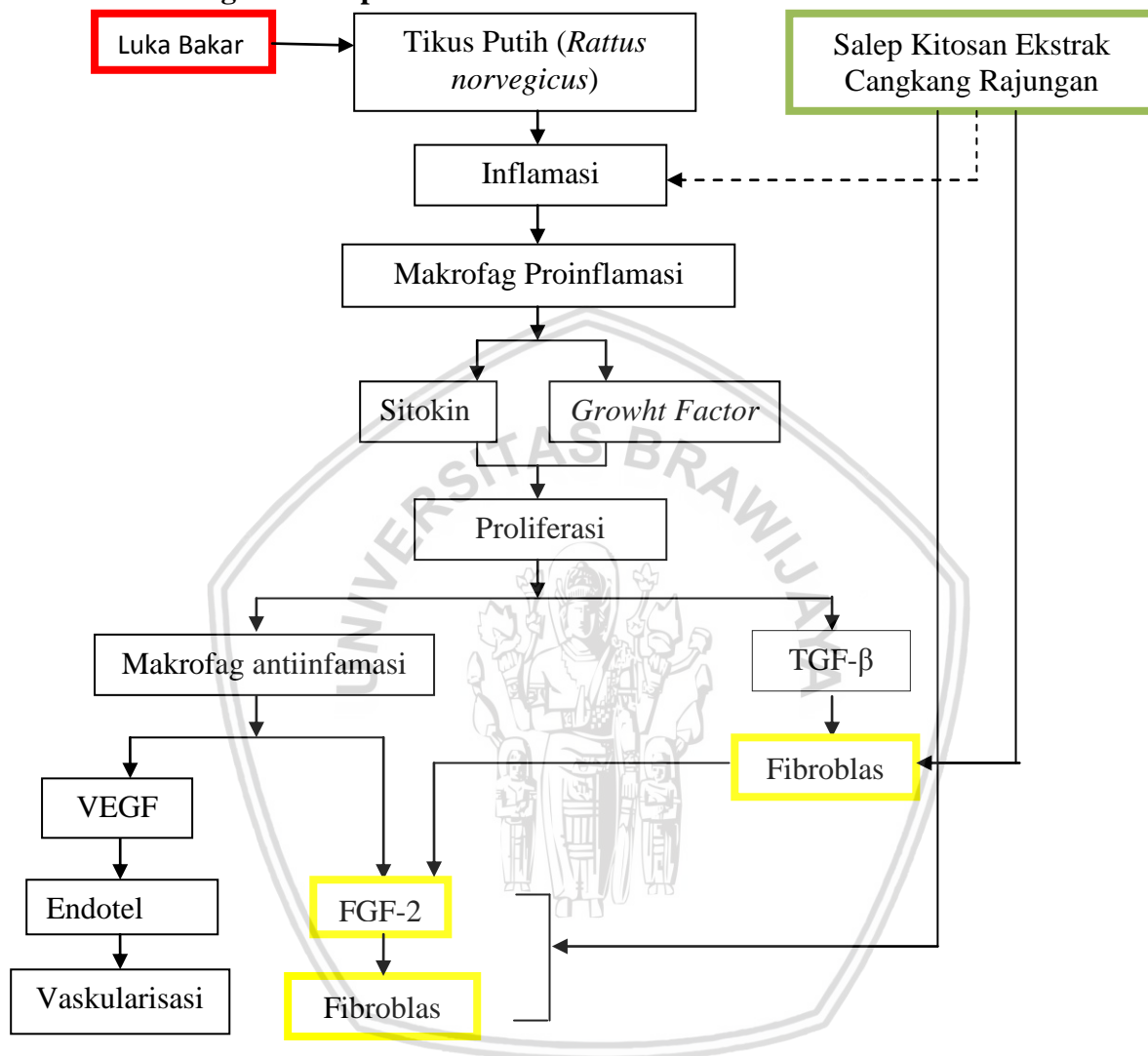
awal luka. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Masami dkk. (2002), yang menyatakan bahwa larutan kitosan mampu menghentikan perdarahan secara komplet sehari setelah pembuatan luka dengan menumbuhkan sejumlah besar fibrin pada permukaan luka, dan setelah itu luka dengan cepat akan mengkerut. Kitosan adalah hemostat yang membantu pembekuan darah alami dan memblokir akhiran saraf untuk mengurangi nyeri. Jinab dkk. pada tahun 2006 melakukan penelitian tentang perbandingan kitosan dan heparin pada luas awal luka bakar dengan hasil derajat luka bakar pada kelompok kitosan lebih ringan daripada kelompok kontrol dan kitosan sangat baik untuk mencegah meluasnya luka bakar pada fase awal, sedangkan heparin tidak berpengaruh sama sekali. Kitosan dan derivatnya menginduksi apoptosis pada peritoneal makrofag setelah pemberian *low-molecular soluble chitosan*. Kitosan dapat memediasi fagositosis makrofag dan mempercepat penyembuhan luka, menstimulasi proliferasi sel. Ketika fase proliferasi seluler yaitu fase terbentuknya granulasi jaringan baru dengan memproduksi kolagen dan protein matriks ekstraseluler yang lain, serta meningkatkan vaskularisasi ke luka untuk memberikan nutrisi yang dibutuhkan oleh sintesis protein. Kitosan dapat meningkatkan pembentukan kolagen dengan cara meningkatkan proliferasi sel fibroblas dan dapat meningkatkan vaskularisasi (pembuluh darah). Hal ini berdasarkan penelitian Chiba dkk. pada tahun 2006 yang menyatakan bahwa hewan yang diberi perlakuan chitosan oligosaccharide menunjukkan resolusi yang lebih cepat pada pembentukan pembuluh darah baru, induksi fibroblas yang lebih besar, dan berikut produksi serat kolagen dibandingkan dengan kontrol. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa proliferasi

fibroblas dan peningkatan jumlah kapiler diobservasi pada kelompok kontrol dan perlakuan, namun granulasi jaringan lebih banyak terdapat pada kelompok kitosan. Hasil ini menjelaskan bahwa kitosan sendiri memfasilitasi penyembuhan luka (Mizuno *et al.*, 2002). Kitosan akan melepas N-acetyl-b-D-glucosa-mine yang menginisiasi proliferasi fibroblas, membantu mengatur deposisi kolagen dan menstimulasi peningkatan level dari sintesis asam hialuronik alami pada luka. Hal tersebut membantu mempercepat penyembuhan luka dan mencegah terbentuk bekas luka. Pada fase awal proses penyembuhan luka, makrofag mengeluarkan kolagenase dan elastase yang memproduksi kolagen dan melepaskan sitokin (Jinab *et al.*, 2006). Selanjutnya pada fase remodeling, jaringan granulasi digantikan oleh kolagen dan serat elastik yang membentuk bekas luka (Shelma *et al.*, 2008).

Kitosan dalam berbagai bentuk sediaan telah diteliti mempunyai pengaruh terhadap percepatan proses penyembuhan luka insisi, sehingga diduga pemberian salep kitosan juga bisa berpengaruh terhadap proses penyembuhan luka bakar kimiawi maupun luka bakar akibat termal.

BAB III KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan :

↑↓ : Efek terapi salep kitosan ekstrak cangkang rajungan

□ : Induksi salep kitosan

□ : Variabel yang diteliti

□ : Induksi luka bakar

---- : Pemberian terapi

↓ : Menstimulus

Hewan model tikus putih (*Rattus norvegicus*) diberi perlakuan pembuatan luka bakar derajat II dalam. Kemudian rangkaian proses penyembuhan luka dimulai sesaat setelah proses luka terjadi. Fase pertama yang dimulai adalah fase koagulasi dilanjutkan fase inflamasi yang berfungsi untuk menyingkirkan jaringan mati dan melawan infeksi bakteri. Pada fase ini makrofag proinflamasi akan teraktivasi dan menghasilkan sitokin proinflamasi dan *growth factor*. Sitokin proinflamasi berfungsi sebagai faktor kemotaktik dari sel radang seperti sel polimorfonuklear, makrofag antiinflamasi, dan limfosit yang bergerak menuju area luka. Kemudian pada fase proliferasi makrofag proinflamasi akan berubah menjadi makrofag antiinflamasi dan menghasilkan *growht factor* berupa VEGF dan FGF-2. VEGF memiliki peran dalam memfasilitasi terjadinya angiogenesis dengan menstimulus proliferasi dan migrasi sel endotel untuk membentuk pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang ada. Sedangkan FGF-2 selain memiliki peran untuk memicu pembentukan pembuluh darah baru juga berperan dalam migrasi dan proliferasi sel fibroblas, migrasi sel makrofag, migrasi sel endotel serta sel epitel pada jaringan yang rusak. Pada fase proliferasi juga dihasilkan TGF- β yang berfungsi menstimulus migrasi dan proliferasi dari sel fibroblas. Fase proliferasi ditandai dengan mulai terbentuk jaringan granulasi pada luka yang terdiri dari jaringan kapiler baru, fibroblas, dan makrofag. PDGF, EGF, TGF- β dan FGF-2 merupakan faktor pertumbuhan berasal dari trombosit dan makrofag yang berfungsi memberikan sinyal pada fibroblas untuk bermigrasi pada area sekitar luka, kemudian fibroblas mensintesis matriks sementara yang tersusun dari tipe kolagen-III, glikosaminoglikan, dan fibronectin yang

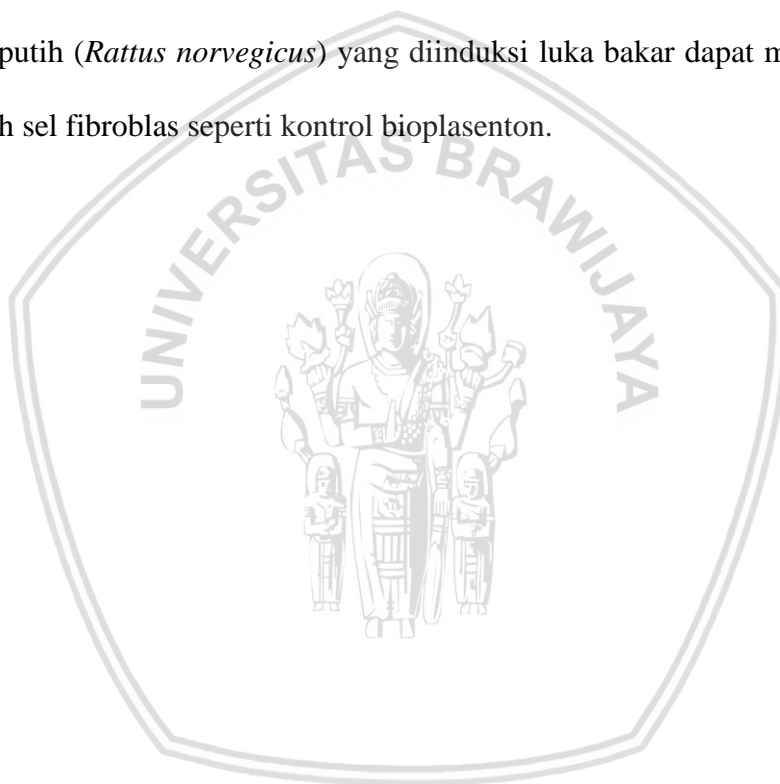
menyediakan platform untuk migrasi keratinosit, selain itu fibroblas juga ikut andil menghasilkan FGF-2. Jenis fibroblas lainnya adalah "fibroblas luka" yang sudah ada di lokasi luka. Jenis fibroblas ini akan berubah menjadi myofibroblas yang berperan untuk kontraksi luka. Myofibroblas mengandung mikrofilamen aktin intraselular yang mampu menghasilkan gaya dan kontraksi matriks. Myofibroblas merapatkan luka melalui interaksi integrin spesifik dengan matriks kolagen (Prasetyono, 2009).

Salep kitosan yang diaplikasikan ke daerah luka bersifat sebagai hemostat yang dapat mempercepat penghentian pendarahan yang menyebabkan vasokonstriksi pembuluh darah dan juga menjadi aktivator makrofag. Ketika terjadi fase inflamasi maka makrofag akan merespon dengan menghasilkan sitokin serta *growth factor* berupa FGF-2 yang akan menstimulus produksi fibroblas. Pembentukan pembuluh darah yang banyak pada luka juga dapat meningkatkan pembentukan fibroblas. Kitosan juga memiliki fungsi sebagai bakterositik, dan antiinflamasi sehingga dapat mempersingkat terjadinya inflamasi serta dapat meningkatkan makrofag saat awal terjadinya inflamasi. Selain itu kitosan mampu menstimulasi sel fibroblas, membantu deposisi kolagen, serta meningkatkan sintesis asam hyaluronic alami di lokasi luka sehingga membentuk jaringan granulasi dan berperan pada pembentukan jaringan ikat. Kitosan juga dapat membantu dalam sekresi enzim kolagenase yang dapat memecah kolagen muda yang terbentuk pada fase proliferasi menjadi kolagen yang lebih matang sehingga kekuatan dari struktur jaringan dapat menjadi lebih kuat dan proses penyembuhan luka dapat terjadi lebih cepat.

3.2 Hipotesis

Hipotesis dari penelitian ini, yaitu :

1. Terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) 5% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar dapat meningkatkan ekspresi FGF-2 seperti kontrol bioplasenton.
2. Terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) 5% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas seperti kontrol bioplasenton.



BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Februari 2018 dan dilakukan di beberapa laboratorium, yaitu :

1. Pemeliharaan hewan coba dan pemberian perlakuan hewan coba di Laboratorium Biokimia FK UB Malang
2. Pembuatan ekstrak cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) di Laboratorium Sintesis Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya.
3. Pembuatan preparat imunohistokimia dan pengamatan untuk ekspresi FGF-2 dilakukan di Laboratorium Biokimia FK UB Malang.
4. Pembuatan preparat histopatologi kulit dan pengamatan untuk jumlah sel fibroblas dilakukan di Laboratorium Patologi Anatomi FKH UB Malang.

4.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain, yaitu kandang tikus, restrainer, spuit 1 ml, glove, masker, spidol, mortar, kompor, alat cukur, plat besi, kasa steril, stopwatch, pinset anatomis, alat penumbuk, dan ayakan. Sedangkan bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, air mendidih suhu 98°C, normal saline 0,9%, obat anastesi (ketamin dan xylazin), salep bioplacenton, vaselin album, antibodi FGF-2, dan tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar umur 2-3 bulan dengan berat 150-200 g. Serta alat dan bahan untuk pembuatan preparat imunohistokimia dan histopatologi.

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Rancangan penelitian dan persiapan hewan coba
2. Prosedur ekstraksi kitosan dari cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*)
3. Perlakuan luka bakar derajat II dalam pada hewan coba dengan menggunakan plat besi yang dipanaskan selama 10 menit dalam air mendidih dan ditempelkan pada kulit selama 15 detik.
4. Terapi salep ekstrak kitosan dari cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) 5%.
5. Perhitungan ekspresi FGF-2 pada preparat imunohistokimia kulit hewan coba.
6. Perhitungan jumlah sel fibroblas pada preparat histopatologi kulit hewan coba.
7. Analisis data

4.3.1 Rancangan Penelitian

Rancangan yang dilakukan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok (RAK) dan merupakan penelitian eksperimental laboratorik dengan *post control design only*. Tiap kelompok terdiri dari beberapa kelompok perlakuan tikus. Kelompok perlakuan pada penelitian yaitu diantaranya :

- 1) Kelompok 1 (K1) adalah tikus yang dibuat luka bakar dengan pemberian terapi salep kitosan ekstrak cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi salep 5% dieuthanasi pada hari ke -1.

- 2) Kelompok 2 (K2) adalah tikus yang dibuat luka bakar dengan pemberian terapi salep kitosan ekstrak cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi salep 5% dieuthanasi pada hari ke-3.
- 3) Kelompok 3 (K3) adalah tikus yang dibuat luka bakar dengan pemberian terapi salep kitosan ekstrak cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan konsentrasi salep 5% dieuthanasi pada hari ke-7.
- 4) Kelompok 4 (B1) adalah tikus kontrol yang dibuat luka bakar dengan pemberian salep bioplasenton yang dieuthanasi pada hari ke-1.
- 5) Kelompok 5 (B2) adalah tikus kontrol yang dibuat luka bakar dengan pemberian salep bioplasenton yang dieuthanasi pada hari ke-3.
- 6) Kelompok 6 (B3) adalah tikus kontrol yang dibuat luka bakar dengan pemberian salep bioplasenton yang dieuthanasi pada hari ke-7.

4.3.2 Penetapan Sampel Penelitian

Kriteria hewan model yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan dengan berat 150-200 g berumur 2-3 bulan. Terdapat 6 perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini, sehingga menurut rumus Federer banyak pengulangan yang diperlukan dapat dihitung menggunakan rumus:

$$(r-1)(t-1) > 15$$

$$(r-1)(6-1) \geq 15$$

$$(r-1) 5 \geq 15$$

$$5r-5 \geq 15$$

Keterangan :

t : Jumlah perlakuan

r : Jumlah ulangan yang diperlukan

$$5r \geq 20$$

$$r \geq 4$$

Berdasarkan perhitungan diatas, maka untuk 6 kelompok perlakuan diperlukan jumlah ulangan minimal 4 kali dalam setiap kelompok perlakuan, sehingga jumlah tikus yang dibutuhkan adalah 24 tikus.

4.3.3 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

- a. Variabel bebas : dosis terapi salep kitosan ekstrak cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*).
- b. Variabel terikat : jumlah sel fibroblas dan ekspresi FGF-2
- c. Variabel kontrol : homogenitas tikus meliputi jenis kelamin, berat badan, umur, pakan, dan kandang serta pelakuan luka bakar.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan dalam penelitian ini adalah tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan dengan berat 150-200 g berumur 2-3 bulan. Tikus diadaptasi selama 7 hari sebelum digunakan untuk penelitian. Untuk pemeliharaan pada hewan coba tersebut pakan diberikan berbentuk pelet sebanyak 10% berat badan setiap pagi dan sore dengan pemberian minum secara *ad libitum*. Tikus kemudian dibagi menjadi 6 kelompok perlakuan dengan masing-masing kelompok 4 ekor didalam kandang secara individu. Kandang tikus berbahan plastik yang dibuat panggung dengan bagian atas berupa kawat ram yang dipinggiri balok kayu. Bagian alas kandang diberi sekam kayu agar kandang tidak

lembap (Muliani, 2011). Pemeliharaan tikus dilakukan di Laboratorium Biokimia FK UB Malang.

4.4.2 Prosedur Ekstraksi Kitosan Cangkang Rajungan

Bahan baku berupa cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) didapatkan dari *home industry* di daerah Sampang Madura. Cangkang rajungan yang digunakan dibersihkan dari daging rajungan, kotoran, dan bagian-bagian tubuh rajungan yang masih melekat menggunakan air kran dan dibilas menggunakan aquades. Kemudian cangkang tersebut dikeringkan dibawah cahaya matahari langsung atau menggunakan oven. Setelah cangkang kering dihaluskan dengan cara ditumbuk dan diayak menggunakan ayakan. Selanjutnya dilakukan ekstraksi kitosan yang terdiri dari tahapan deproteinasi, demineralisasi, dan deasetilisasi.

a. Deproteinasi

Serbuk cangkang rajungan yang telah diayak sebanyak 400 g direaksikan dengan 3000 mL NaOH 1 M dan dihomogenkan menggunakan magnetik sirrer pada suhu 80°C selama 1 jam. Kemudian padatan disaring dan residu tersebut dikeringkan dengan menggunakan oven dengan suhu 80°C hingga kering \pm 3 jam (Hastuti dan Tulus, 2015).

b. Demineralisasi

Serbuk hasil deproteinisasi sebanyak 200g ditambah dengan 2000 mL HCL 1 M dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* selama 60 menit pada suhu kamar. Kemudian endapan disaring dan residu dicuci dengan akuades pH netral. Kemudian residu tersebut dikeringkan kembali dengan menggunakan oven

bersuhu 80°C selama 3 jam. Hasil endapan ini disebut dengan kittin (Hastuti dan Tulus, 2015).

c. Deasetilisasi

Kittin yang telah dihasilkan dari proses demineralisasi berupa serbuk sebanyak 40 g ditambah dengan 250 NaOH 50%, kemudian direfluks didalam labu alas bulat selama 8 jam pada suhu 100°C. Hasil refluks kemudian didinginkan, disaring, lalu dicuci dengan *aquades* sampai pH netral. Kemudian endapan dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 80°C selama 3 jam dan endapan yang telah kering diletakkan dalam desikator selama 24 jam (Hastuti dan Tulus, 2015).

d. Identifikasi Kitosan dengan Metode FTR

Identifikasi kitosan secara kualitatif dilakukan dengan menggunakan uji FTR (Fourier Transform Infra Red). Uji ini merupakan suatu teknik spektrofotometri inframerah yang dapat mengidentifikasi kandungan gugus fungsi suatu senyawa (Sjahfirdi dkk., 2015). Setelah proses deasetilisasi kitosan disimpan dalam desikator selama 24 jam sebelum dibuat pelet KBr (Kalium bromida). Pembuatan pelet KBr dengan mencampurkan sampel 1 mg dan KBr 10-100 mg. Campuran serbuk digerus hingga homogen dan ditekan dengan pompa hidrolik (Azhar dkk., 2010). Kemudian pelet tersebut discanning pada daerah frekuensi antara 400 cm^{-1} sampai 4000 cm^{-1} . Spektrum hasil pengukuran yang diperoleh dibandingkan dengan spektrum kitosan standar (Rachmawati dkk., 2012).

4.4.3 Pembuatan Salep Kitosan Cangkang Rajungan

Pembuatan salep kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) menggunakan dasar salep hidrokarbon bahan *vaselin album*. *Vaselin album* memiliki kemampuan menghidrasi kulit sehingga dapat meningkatkan absorpsi zat aktif kitosan pada kulit (Naibaho dkk., 2013). Pembuatan dilakukan menggunakan mortar dengan mencampurkan vasetin album dan kitosan dengan konsentrasi 5% sebanyak 14 g. Kemudian salep kitosan disimpan dalam tube dilengkapi dengan label.

4.4.4 Pembuatan Luka Bakar pada Tikus

Langkah-langkah yang dilakukan untuk pembuatan luka bakar pada hewan coba adalah sebagai berikut :

- 1) Menentukan daerah yang akan dibuat luka bakar yaitu bagian punggung.
- 2) Membersihkan bulu dan mencukur area tersebut sampai jarak 3 cm dari area yang akan dibuat luka bakar.
- 3) Memasang perlak atau alas dibawah tubuh tikus yang akan dibuat luka bakar.
- 4) Mencuci tangan dan memakai sarung tangan steril.
- 5) Melakukan desinfeksi area kulit yang akan dibuat luka bakar dengan alkohol 70% dan tunggu hingga kering.
- 6) Melakukan anastesi pada area kulit yang akan dibuat luka bakar menggunakan ketaxyla 0,195 ml per ekor IM pada kaki belakang.
- 7) Membuat luka bakar dilakukan menggunakan plat besi dengan tebal 2 mm, panjang 2,5 cm dan lebar 2 cm.

- 8) Memanaskan plat besi pada air mendidih 98°C selama 10 menit.
 - 9) Menempelkan plat besi pada kulit hewan coba selama 15 detik sampai berbebtuk bula.
 - 10) Mengangkat kasa lalu mengompres dengan normal salin selama 1 menit untuk mencegah kombusio.
 - 11) Memberikan perawatan pada area luka yang terbentuk sesuai prosedur rawat luka.
 - 12) Melepas sarung tangan, merapikan alat dan mencuci tangan.
- (Gayline *et al.*, 2000)

4.4.5 Terapi Salep Kitosan Cangkang Rajungan

Salep dibuat sejumlah 14 g dengan konsentrasi yaitu 5%. Salep diberikan sebanyak 0,25 g pada area luka secara aseptis dengan frekuensi pemberian 2 kali sehari selama 7 hari (Djamaluddin, 2009).

4.4.6 Pembuatan Preparat Histologi Kulit

Sebelum membuat preparat histologi jaringan kulit dilakukan euthanasi terlebih dahulu pada hewan coba dengan cara dislokasi bagian leher. Setelah itu dilakukan pengambilan jaringan kulit. Kulit digunting dengan ketebalan ± 4 mm sampai dengan subkutan dan panjang 2,5 cm. Bagian kulit luka diisolasi dan dibilas dengan NaCl fisiologis 0,9%. Kulit yang diperoleh kemudian dipotong menjadi dua bagian. Lalu bagian yang ingin digunakan untuk pembuatan preparat histopatologi dimasukkan ke dalam pot dan difiksasi dengan larutan *Buffer Natural Formaline* (BNF) dan dibiarkan pada suhu kamar selama 48 jam (Febram dkk., 2010). Sedangkan bagian kulit yang akan digunakan untuk pembuatan

preparat imunohistokimia untuk perhitungan ekspresi FGF-2 dimasukkan ke dalam cawan petri.

Sediaan kulit yang telah difiksasi menggunakan BNF 10% dilakukan tissue trimming jaringan dan dimasukkan ke dalam cassette tissue dari plastik. Kemudian dilakukan proses dehidrasi alkohol menggunakan konsentrasi alkohol bertingkat yaitu 70%, 80%, 90%, alkohol absolut I, alkohol absolut II masing-masing selama 2 jam. Setelah itu dilakukan penjernihan menggunakan xylol I dan xylol II masing-masing selama 2 jam. Dilanjutkan dengan proses pencetakan atau parafinisasi menggunakan parafin I dan parafin II. Sediaan dimasukkan ke dalam cetakan yang berisi parafin setengah volume dan potongan melintang sediaan melekat pada dasar parafin. Setelah mulai membeku maka parafin ditambahkan lagi dalam pencetak hingga penuh dan dibiarkan mengeras. Setelah blok parafin mengeras dilakukan pemotongan setebal 5 mikrometer menggunakan mikrotom. Hasil potongan yang berbentuk pita (*ribbon*) tersebut dibentangkan diatas air hangat yang bersuhu 46°C dan langsung diangkat untuk meregangkan potongan agar menghilangkan lipatan akibat dari pemotongan. Sediaan tersebut kemudian diangkat dan diletakkan diatas gelas objek dan dikeringkan semalaman dalam inkubator bersuhu 60°C untuk dilakukan pewarnaan Hematoksilen-Eosin (HE) (Febram dkk., 2010).

4.4.7 Perhitungan Jumlah Sel Fibroblas Kulit

Jumlah sel fibroblas diamati pada lapisan dermis menggunakan mikroskop BX51 perbesaran 400x, sel tersebut terlihat berbentuk elips dan memiliki inti bewarna ungu. Jumlah sel fibroblas dihitung pada lima lapang pandang berbeda dari masing-masing preparat dengan bantuan *software Imageraster* dan kemudian diambil nilai rata-rata dari jumlah sel tersebut (Balqis dkk., 2014).

4.4.8 Prosedur Imunohistokimia dan Perhitungan Ekspresi FGF-2

Imunohistokimia (IHK) merupakan suatu teknik yang digunakan untuk menentukan keberadaan protein target dalam jaringan atau sel dengan memanfaatkan prinsip antara protein target (antigen) dan antibodi. Teknik ini diawali dengan pembuatan preparat histologi agar dapat diamati di bawah mikroskop. Preparat jaringan yang telah didapat selanjutnya memasuki prosedur IHK. Prosedur IHK menggunakan antibodi yang dilabeli enzim sehingga ikatan protein dan antibodi dapat divisualisasikan. Enzim selanjutnya direaksikan dengan substrat kromogen yang dapat diamati dengan mikroskop cahaya (Fatchiyah dkk., 2009).

Ekspresi FGF-2 diamati pada bagian sitoplasma sel makrofag pada lapisan dermis yang berwarna kecoklatan menggunakan mikroskop BX51 perbesaran 400x dan diamati pada lima bidang pandang berbeda dari masing-masing preparat. Hasil pengamatan kemudian difoto dan dilakukan perhitungan menggunakan *software imagiraster*.

4.4.9 Analisa Data

Dalam penelitian ini parameter yang digunakan adalah jumlah sel fibroblas dan ekspresi FGF-2, dianalisis secara kuantitatif menggunakan Microsoft Excel dan SPSS for windows dengan analisis statistik ragam One Way ANOVA Faktorial (*General linear*) untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antar kelompok penelitian. Jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan Uji Tukey $\alpha=0,05$ (Firdaus dkk., 2013).



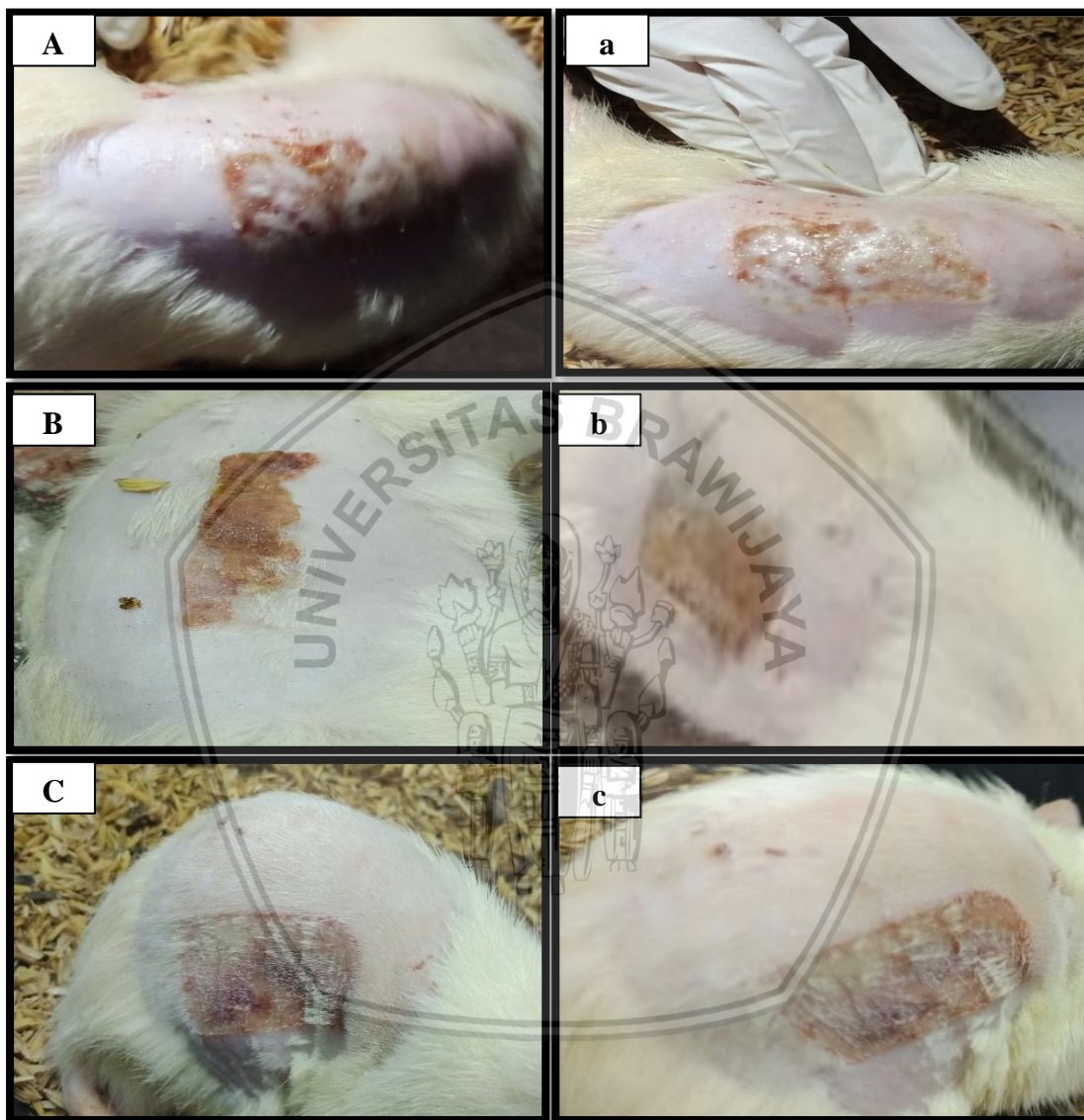
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Tikus Pasca Diinduksi Luka Bakar Derajat II dalam

Hewan coba berupa tikus putih (*Rattus norvegicus*) galur wistar jantan dengan berat 150-200 g berumur 2-3 bulan diberikan perlakuan berupa luka bakar derajat II dalam sepanjang 2,5 cm dengan lebar 2cm, kemudian diberikan terapi berupa salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pellagicus*) dengan konsentrasi 5% secara topical sebanyak 0,25 g selama 7 hari pada area luka bakar dan digunakan salep bioplasenton sebagai kontrol (*Gold Standar*). Proses perkembangan kesembuhan luka bakar diamati pada hari ke-1, ke-3, dan ke-7 seperti pada **Gambar 5.1**

Gambaran makroskopis luka bakar pada K1 (salep kitosan hari ke-1) dan pada B1 (kontrol bioplasenton hari ke-1) menunjukkan bahwa luka berada pada fase haemostasis yang ditandai dengan terbentuknya bulla, dimana bulla tersebut mengandung cairan transudat. Pelepasan protein yang mengandung transudat ke dalam luka menyebabkan vasodilatasi dan pelepasan histamin maupun serotonin. Hal ini memungkinkan fagosit memasuki daerah yang mengalami luka dan memakan sel-sel mati (jaringan yang mengalami nekrosis). Eksudat adalah cairan yang diproduksi dari peningkatan tekanan hidrostatik pada luka, serta merupakan komponen kunci dalam penyembuhan luka, mengalir luka secara berkesinambungan dan menjaga keadaan tetap lembab. Transudat juga memberikan luka suatu nutrisi dan menyediakan kondisi untuk mitosis dari sel-sel epitel. Kemudian setelah fase haemostasis berakhir maka dilanjutkan fase inflamasi ditandai dengan adanya edema, kemerahan, panas dan nyeri. Inflamasi

terjadi karena adanya mediasi oleh sitokin, kemokin, faktor pertumbuhan, dan efek terhadap reseptor (Handi dkk., 2013).



Gambar 5.1. Gambaran makroskopis proses kesembuhan luka bakar derajat II dalam pada hari ke-1, ke-3, dan ke-7.

Keterangan : A. Terapi salep kitosan hari ke-1, a. Kontrol bioplasenton hari ke-1, B. Terapi salep kitosan hari ke-3, b. Kontrol bioplasenton hari ke-3, C. Terapi salep kitosan hari ke-7, c. Kontrol bioplasenton hari ke-7.

Pada luka K3 (salep kitosan hari ke-3) dan B3 (kontrol bioplasenton hari ke-3) terlihat warna kemerahan mulai memudar menjadi kecoklatan, bula mulai hilang dan area luka sedikit mengering, hal ini menunjukkan mulai berakhirnya

fase inflamasi. Pada gambar tersebut nampak warna kecoklatan dan jaringan yang telah mengering pada tikus perlakuan salep kitosan dan tikus kontrol bioplasenton tidak jauh berbeda. Hal ini menunjukkan bahwa kedua salep tersebut memiliki kemampuan percepatan proses kesembuhan yang hampir sama.

Setelah berakhirnya fase inflamasi maka proses selanjutnya adalah fase proliferasi yang biasanya mulai terjadi pada hari ke-3 sampai hari ke-7 (Prasetyono, 2009). Pada fase proliferasi terjadi beberapa proses yang terdiri dari neoangiogenesis, pembentukan jaringan tergranulasi, dan epitelisasi kembali. Jaringan yang tergranulasi terbentuk oleh pembuluh darah kapiler dan limfatik ke dalam luka dan kolagen yang disintesis oleh fibroblas dan memberikan kekuatan pada kulit. Sel epitel kemudian mengeras dan memberikan waktu untuk kolagen memperbaiki jaringan pada area luka (Handi dkk., 2013). Seperti tampak pada gambar luka K7 (salep kitosan hari ke-7) dan luka B7 (kontrol bioplasenton hari ke-7) terlihat jaringan mulai mengeras dan terjadi regenerasi sel, pada luka K7 maupun B7 sudah sepenuhnya tertutup oleh jaringan yang mengeras.

Untuk mengetahui pengaruh pemberian salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pellagicus*) terhadap jumlah sel fibroblas pada jaringan kulit pasca luka bakar dilakukan pewarnaan dengan metode HE dan ekspresi FGF-2 dengan metode IHC.

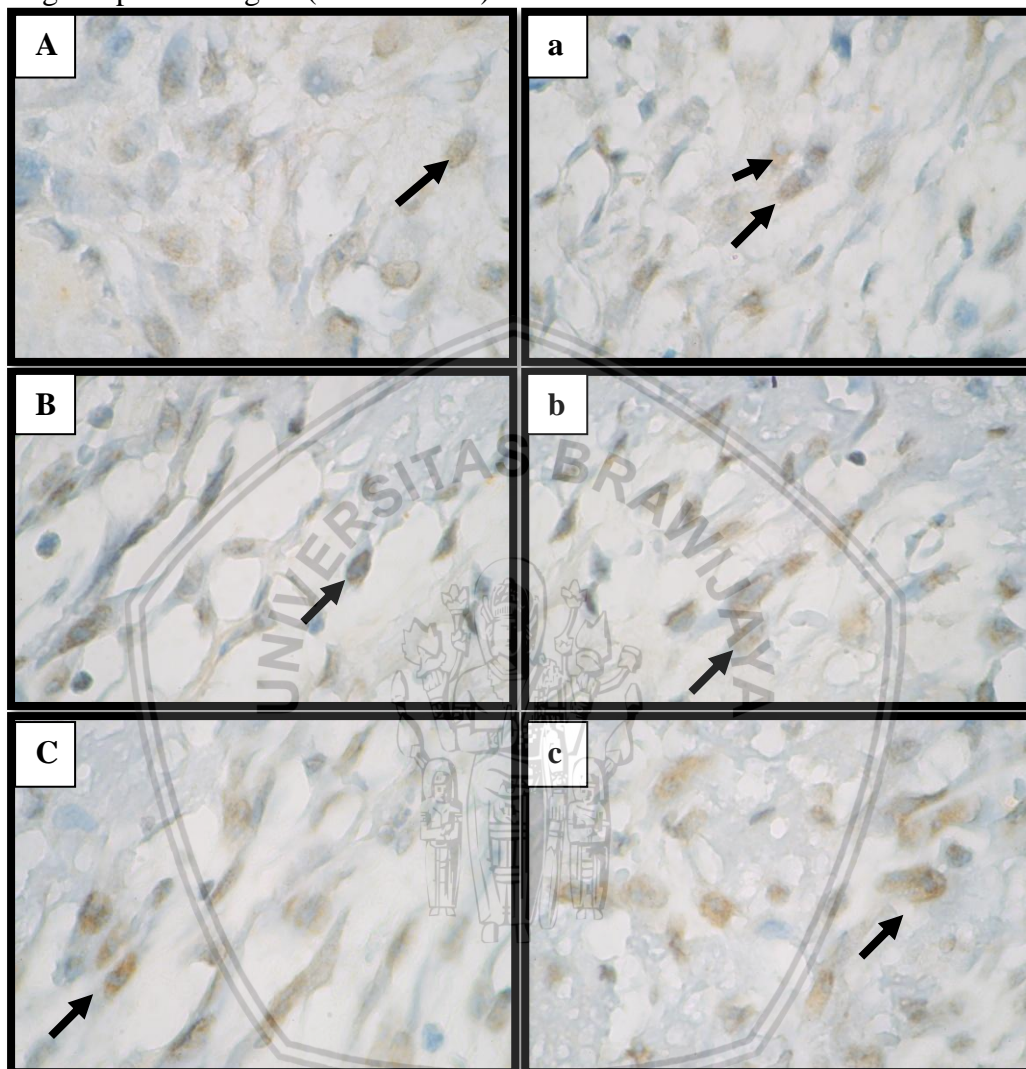
5.2 Efek Pemberian Ekstrak Cangkang Rajungan (*Portunus pellagicus*) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Luka Bakar terhadap Ekspresi FGF-2

Ekspresi FGF-2 pada jaringan kulit tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar derajat II dalam diamati mikroskop Olympus BX51 perbesaran 400x

sebanyak lima lapang pandang dan dihitung *softwareimagiraster* serat dianalisa menggunakan *Two Way Anova Faktorial (General Linear)* untuk memperoleh jumlah rata-rata sel makrofag yang terekspresi oleh FGF-2 pada masing-masing ulangan setiap kelompok. Sel yang dapat mengekspresikan FGF-2 adalah sel makrofag dan sel fibroblas, namun pada penelitian ini yang dihitung hanya sel makrofag yang mengekspresikan FGF-2, untuk mendapatkan hasil yang seragam dan lebih maksimal, dikarenakan pada hari ke-1 setelah luka adalah fase inflamasi sehingga sel fibroblas belum aktif berproliferasi. Sel fibroblas baru akan berproliferasi dan menghasilkan FGF-2 pada fase proliferasi yakni dimulai dari hari ke-3 setelah terjadinya luka, sehingga dikhawatirkan jika FGF-2 belum terekspresi maka perhitungan menjadi tidak optimal apabila mengikutsertakan perhitungan ekspresi FGF-2 pada sel fibroblas. Makrofag merupakan sel yang tersebar luas diberbagai jaringan, merupakan fagosit, *antigen processing* dan *antigen presenting cells* (APC) serta merupakan sel yang menghasilkan berbagai macam mediator. Berbagai jenis mediator yang disintesis oleh makrofag pada fase proliferasi salah satunya adalah FGF-2 (Edi, 2005). Ekspresi FGF-2 ditunjukkan oleh sel makrofag yang berwarna coklat dan ungu kehitaman pada bagian dermis jaringan kulit (**Gambar 5.2**)

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka diperoleh data ekspresi FGF-2 dari masing-masing kelompok perlakuan salep kitosan maupun kelompok kontrol bioplasenton. Dapat diketahui bahwa rata-rata jumlah ekspresi FGF-2 di makrofag pada kelompok perlakuan salep kitosan hari K1, K3, dan K7 adalah 2.55, 3.85, dan 5.10, sedangkan pada kelompok kontrol bioplasenton jumlah rata-

rata ekspresi FGF-2 B1, B3, dan B7 adalah 2.50, 4.05, dan 5.00 dapat dilihat pada diagram perbandingan (**Gambar 5.3**).



Gambar 5.2. Ekspresi FGF-2 Kulit Tikus hari ke-1,ke-3 dan hari ke-7 pada lapisan dermis (pewarnaan Imunohistokimia, perbesaran 400x)

Keterangan: **A.** Terapi kitosan hari ke-1, **B.** Terapi kitosan hari ke-3, **C.** Terapi kitosan hari ke-7, **a.** Kontrol bioplasenton hari ke-1, **b.** Kontrol bioplasenton hari ke-3, **c.** Kontrol bioplasenton hari ke-7; ekspresi FGF-2 ditunjukkan oleh makrofag yang berwarna coklat dan ungu kehitaman (Ekspresi FGF-2 ditunjukkan dengan panah hitam).

Jumlah rata-rata ekspresi FGF-2 pada tiap perlakuan mengalami peningkatan pada tiap fase kesembuhan mulai dari fase inflamasi menuju fase proliferasi pada hari ke-1, hari ke-3 dan hari ke-7 selama 7 hari pemberian terapi

dengan perbedaan yang signifikan pada setiap harinya. Hal tersebut terlihat sebanding dengan nilai yang tidak berbeda jauh dan memiliki notasi yang sama antara jumlah rata-rata ekspresi FGF-2 kelompok perlakuan salep kitosan K1, K3, dan K7 dengan kelompok kontrol bioplasenton B1, B3, dan B7 (**Tabel 5.1**).

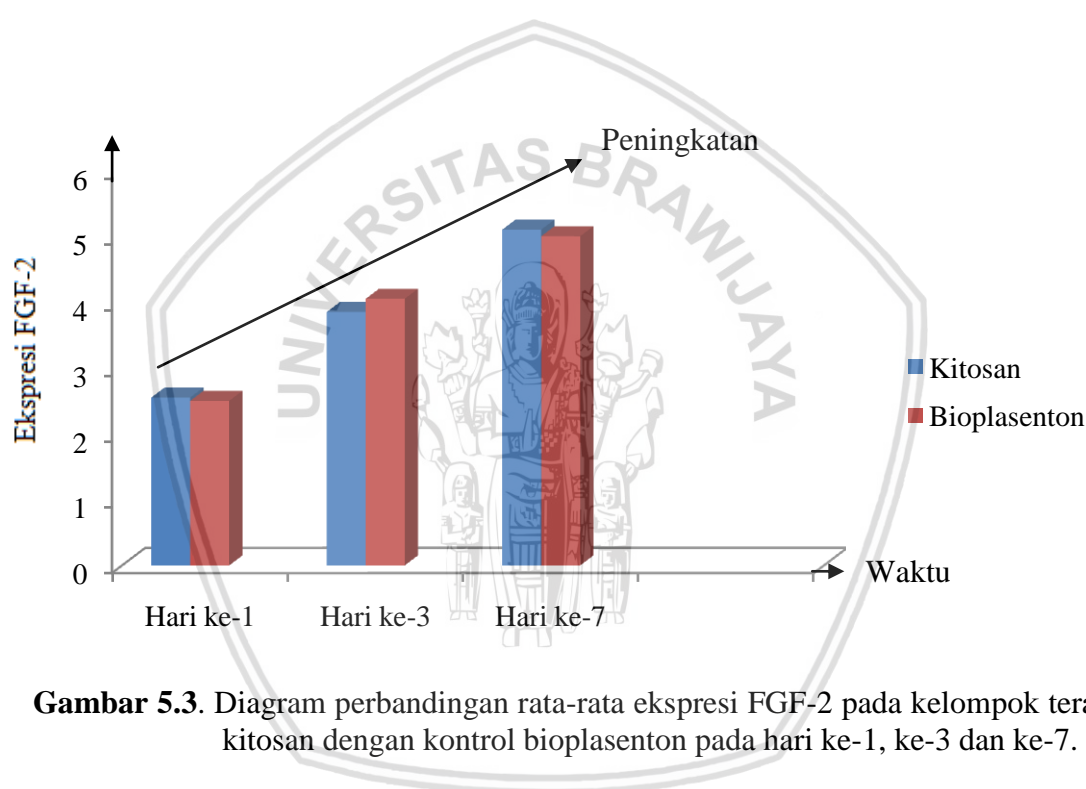
Tabel 5.1. Data Jumlah Ekspresi FGF-2 Kelompok Perlakuan Salep Kitosan dan Kelompok Kontrol Bioplasenton Hari ke-1,3, dan 7

Kelompok	Rata-rata Jumlah Ekspresi FGF-2 (Mean±SD)	Peningkatan Ekspresi FGF2(%)
K1 (Terapi salep kitosan hari ke-1)	2.55±0.55 ^a	—
K3 (Terapi salep kitosan hari ke-3)	3.85±0.34 ^b	33
K7 (Terapi salep kitosan hari ke-7)	5.10±0.68 ^c	24
B1 (Kontrol bioplasenton hari ke-1)	2.50±0.41 ^a	—
B3 (Kontrol bioplasenton hari ke-3)	4.05±0.70 ^b	38
B7 (Kontrol bioplasenton hari ke-7)	5.00±0.97 ^c	19

Keterangan : Notasi a dan b menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok

Berdasarkan **Tabel 5.1** dan **Gambar 5.3** dapat dilihat bahwa K1 memiliki rata-rata jumlah ekspresi FGF-2 terendah dibandingkan dengan rata-rata jumlah FGF-2 lainnya pada kelompok terapi kitosan karena merupakan hari ke-1 setelah terjadinya luka sehingga masih berada pada fase inflamasi, sesuai menurut teori Masuoka (2005) bahwa *growth factor* berupa FGF-2 akan disintesis oleh makrofag dan sel fibroblas pada fase proliferasi sehingga akan mengalami peningkatan yang signifikan apabila telah memasuki awal fase proliferasi. Pada K3 jumlah rata-rata ekspresi FGF-2 mengalami peningkatan yang signifikan sebesar 33% dari K1 hal ini dikarenakan pada hari ke-3 setelah luka proses kesembuhan mulai memasuki awal fase proliferasi, dimana pada fase tersebut makrofag mulai memproduksi *growth factor* secara signifikan yang salah satunya adalah FGF-2. Pada K7 jumlah rata-rata ekspresi FGF-2 mengalami peningkatan

signifikan sebesar 24% dari K3 dan K1. Sama halnya pada kelompok kontrol bioplasenton B1 memiliki jumlah rata-rata ekspresi FGF-2 terendah dibandingkan kelompok kontrol bioplasenton hari lainnya. Pada kontrol bioplasenton B3 mengalami peningkatan yang signifikan sebesar 38% dibandingkan B1 dan pada B7 mengalami peningkatan yang signifikan sebesar 19% dibandingkan B3 dan B1.



Gambar 5.3. Diagram perbandingan rata-rata ekspresi FGF-2 pada kelompok terapi salep kitosan dengan kontrol bioplasenton pada hari ke-1, ke-3 dan ke-7.

Rata-rata ekspresi FGF-2 pada kelompok perlakuan salep kitosan hari ke-1 (K1) adalah 2.55, sedangkan pada kelompok kontrol bioplasenton (B1) adalah 2.50, rata-rata jumlah ekspresi FGF-2 pada K1 lebih tinggi dari B1 namun keduanya memiliki notasi sama yang menunjukkan bahwa hasil tidak berbeda signifikan, maka dari data tersebut dapat diketahui perlakuan salep kitosan memiliki efek yang hampir sama dengan kontrol bioplasenton. Pada hari ke-1 setelah luka jumlah ekspresi FGF-2 K1 dan B1 rendah karena proses kesembuhan

masih berada pada fase inflamasi. Pada fase inflamasi yang terjadi hanya aktivitas seluler yaitu pergerakan leukosit menembus dinding pembuluh darah (diapedesis) menuju luka karena daya kemotaksis. Leukosit mengeluarkan enzim hidrolitik yang membantu mencerna bakteri dan debris pada luka. Kemudian terjadi invasi sel inflamasi pada jaringan luka. Sel polimorfonuklear (PMN) bermigrasi menuju daerah luka dan terjadi transisi sel PMN menjadi sel mononuklear atau makrofag yang merupakan sel paling dominan pada fase ini selama lima hari dengan jumlah paling tinggi pada hari ke-dua sampai hari ke-tiga (Faler *et al.*, 2006).

Pada hari ke-3 setelah terjadinya luka rata-rata ekspresi FGF-2 pada K3 dan B3 juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan yaitu 3.85 dan 4.05 ditunjukkan dengan notasi yang sama diantara keduanya. Dibandingkan dengan K1 dan B1, pada K3 dan B3 mengalami peningkatan yang signifikan karena proses penyembuhan telah memasuki awal fase proliferasi. Fase proliferasi terdiri dari angiogenesis, pembentukan jaringan yang tergranulasi, dan epitelisasi kembali. Angiogenesis memiliki faktor seperti FGF-1 dan FGF-2 yang dihasilkan oleh makrofag ketika terjadi hipoksia jaringan. FGF-2 bekerja dengan menstimulasi sel endotelial untuk melepaskan aktivator plasminogen dan prokolagenase. Aktivator plasminogen akan mengubah plasminogen menjadi plasmin dan prokolagenase untuk mengaktifkan kolagenase, lalu akan terjadi digesti konstituen membran dasar. Ekspresi kolagenase menghasilkan proses perbaikan jaringan pada matriks ekstraselular dan juga memiliki peran penting dalam menginisiasi migrasi keratinosit dalam proses penyembuhan luka. Selain itu adanya proliferasi sel fibroblas juga ikut andil dalam memproduksi *growth*

factor berupa FGF-2 (Handi dkk., 2015). Rata-rata ekspresi FGF-2 terus mengalami peningkatan yang signifikan hingga pada K7 dan B7. Pada K7 juga menunjukkan rata-rata ekspresi FGF-2 tidak berbeda signifikan dengan B7 yang ditandai dengan notasi yang sama diantara keduanya. Pada hari ke-7 setelah luka proses penyembuhan masih berada pada fase proliferasi. Fase proliferasi terjadi pada hari ke-3 hingga hari ke-14 setelah terjadinya luka (Tifani, 2015).

Berdasarkan data dapat dilihat bahwa pemberian salep kitosan dapat meningkatkan jumlah rata-rata ekspresi FGF-2 pada makrofag sebanding tanpa perbedaan yang jauh dengan kontrol bioplasenton. Hal ini didukung dengan penelitian Masuoka *et al.* (2005), yang menyatakan bahwa kitosan memiliki kemampuan untuk meningkatkan paruh waktu *basic Fibroblast Growth Factor* dibanding kelompok kontrol dengan cara melindunginya agar tidak terdegradasi oleh panas atau enzim-enzim yang mungkin merusaknya. *Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF)* atau disebut juga FGF-2 adalah salah satu prototipe *Fibroblast Growth Factor (FGF)* yang memiliki pengaruh amat besar terhadap perkembangan jaringan granulasi, proliferasi fibroblas dan angiogenesis. BFGF diaktifasi dari ECM apabila terjadi kerusakan jaringan seperti luka. FGF-2 bertanggung jawab terhadap stimulasi sinyal dalam proses perkembangan sel awal (seperti penetapan pola, proliferasi, diferensiasi dan migrasi) membentuk sebuah jaringan baru (Thisse, 2005).

Kitosan mampu memfasilitasi migrasi sel inflamasi, dengan cara menstimulasi IL-8 yang akan memicu peningkatan migrasi neutrofi pada area luka. Kitosan yang bermuatan positif akan bereaksi dengan permukaan muatan

negatif dari *anionic polymer* pada *manose receptor* makrofag. Setelah berikatan dengan reseptor, kitosan di internalisasi oleh sel makrofag (Mori *et al*, 2005). Kitosan memiliki sifat biodegradasi sehingga oleh enzim lisosim yang merupakan katalis untuk mendegradasi kitosan *N-acetyl-D-glucosamine* bentuk polimer menjadi *N-acetyl-D-glucosamine* bentuk dimer aktif dan membentuk *cross-linked* dengan *glycosaminoglycan* dan *glycoprotein* yang merupakan makromolekul matriks ekstraseluler serta menstimulasi peningkatan TGF- β dan FGF-2. Sel inflamasi yang bermigrasike arah luka didominasi oleh sel mononuklearseperti sel makrofag. Pemberian kitosan akan memicu sel makrofag untuk meningkatkan produksi sitokin yang berupa TGF- β 1. *Transforming growth factor betha 1* (TGF- β 1) dan FGF 2 merupakan *growth factors* yang memicu proliferasi sel fibroblas pada penyembuhan luka. Sel Fibroblas menghasilkan matriks ekstraseluler baru yang perlu untuk mendukung proses penyembuhan dan pembuluh darah untuk mengangkut oksigen dan nutrisi yang diperlukan untuk mendukung metabolisme sel. *Growth factor*, khususnya PDGF, FGF dan TGF β 1, bersama-sama dengan molekul matriks ekstraseluler memacu sel fibroblas dari jaringan sekitar luka untuk berproliferasi dan mengekspresikan reseptor integrin (Sularsih, 2016).

Kitosan dapat meningkatkan fungsi sel inflamasi seperti *polymorphonuclear leukocytes* (PMN), makrofag (fagositosis, produksi *interleukin* (IL-1), *transforming growth factor β 1* dan *platelet-derived growth factor*. Sehingga kitosan berperan dalam mengoptimalkan fase inflamasi dan mempersingkat waktu dari fase inflamasi. Sehingga apabila fase inflamasi selesai maka selanjutnya akan masuk pada tahap selanjutnya yaitu fase proliferasi.

Kemampuan kitosan memicu peningkatan proliferasi sel fibroblas dan FGF-2 yang signifikan akan berpengaruh pada kecepatan fase proliferasi dan pada akhirnya akan berdampak pada proses kesembuhan yang semakin cepat.

5.3 Efek Pemberian Ekstrak Cangkang Rajungan (*Portunus pellagicus*) pada Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi Luka Bakar terhadap Jumlah Sel Fibroblas

Menurut Junqueira dan Carneiro (2005), sel fibroblas memiliki bentuk yang lebih besar dibandingkan sel fibrosit dengan inti yang bersifat euchromatic. Sitoplasma berbentuk irregular dengan beberapa penjururan. Fibroblas merupakan sel besar, gepeng, bercabang-cabang, dari samping terlihat berbentuk gelendong atau fusiform, cabang-cabangnya berbentuk langsing. Inti lonjong atau memanjang dan diliputi membran inti halus dengan satu atau dua anak inti jelas (**Gambar 5.5**). Berdasarkan gambar sel fibroblas yang diamati menggunakan mikroskop perbesaran 400x pada lapisan dermis dan dianalisa menggunakan *One Way Anova Faktorial (General linear)*, diketahui bahwa rata-rata jumlah sel fibroblas pada kelompok perlakuan salep kitosan hari ke-1, 3, dan 7 adalah 6.45, 22.45, dan 46.25, sedangkan pada kelompok kontrol bioplasenton adalah 6.60, 21.25, dan 42.40 dapat dilihat pada diagram perbandingan (**Gambar 5.4**). Jumlah rata-rata sel fibroblas selama 7 hari pada tiap perlakuan mengalami peningkatan dari hari ke hari selama proses terjadinya fase kesembuhan mulai dari hari ke-1, ke-3, dan mencapai puncak pada hari ke-7 dengan perbedaan rata-rata yang signifikan pada masing-masing kelompok baik pada kelompok perlakuan salep kitosan maupun kelompok kontrol bioplasenton (**Tabel 5.2**).

Pada proses kesembuhan luka secara alami sel-sel fibroblas akan mengalami proses peningkatan dari fase ke fase tanpa harus diberikan terapi apapun. Hal ini sesuai dengan teori yang mengatakan bahwa proses penyembuhan luka yang baik adalah salah satunya ditandai dengan peningkatan jumlah sel fibroblas (Saunders, 2007). Pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa pemberian kitosan pada luka dapat meningkatkan jumlah sel fibroblas lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol tanpa pemberian kitosan dengan dosis efektif sebesar 5%. Sehingga pada penelitian ini diharapkan pemberian salep ekstrak kitosan memiliki kualitas yang setara dan mampu meningkatkan rata-rata jumlah sel fibroblas sebanding dengan salep bioplasenton yang digunakan sebagai kontrol dan telah beredar dipasaran.

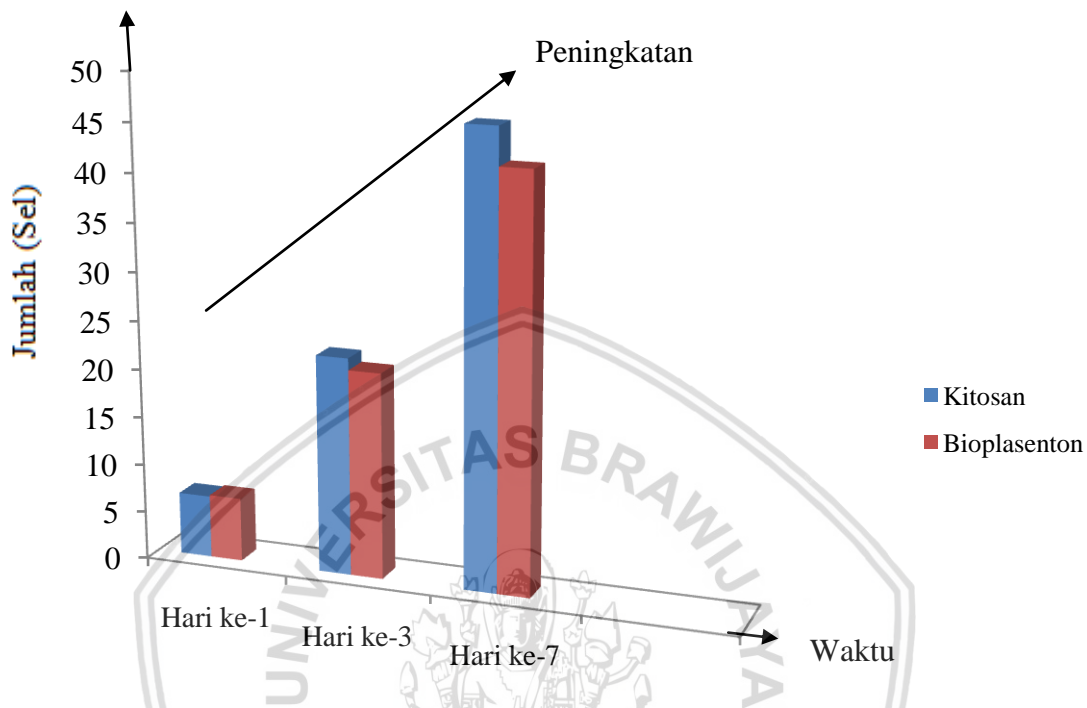
Tabel 5.2. Data Jumlah Sel Fibroblas Kelompok Perlakuan Salep Kitosan dan Kelompok Kontrol Bioplasenton Hari ke-1,3, dan 7

Kelompok (Mean±SD)	Rata-rata Jumlah Sel Fibroblas	Peningkatan Sel Fibroblas (%)
K1 (Terapi salep kitosan hari ke-1)	6.45±1.56 ^a	—
K3 (Terapi salep kitosan hari ke-3)	22.45±0.71 ^b 71	
K7 (Terapi salep kitosan hari ke-7)	46.25±6.52 ^c 51	
B1 (Kontrol Bioplasenton hari ke-1)	6.60±0.56 ^a —	
B3 (Kontrol Bioplasenton hari ke-3)	21.25±1.22 ^b 68	
B7 (Kontrol Bioplasenton hari ke-7)	42.40±5.45 ^c 49	

Keterangan : Notasi a,b, dan c menunjukkan adanya perbedaan antar kelompok

Berdasarkan **Tabel 5.2** dan **Gambar 5.4** dapat dilihat bahwa K1 memiliki rata-rata jumlah sel fibroblas terendah dibandingkan dengan rata-rata jumlah sel fibroblas lainnya pada kelompok terapi kitosan karena merupakan fase inflamasi. Pada K3 jumlah rata-rata sel fibroblas mulai mengalami peningkatan yang

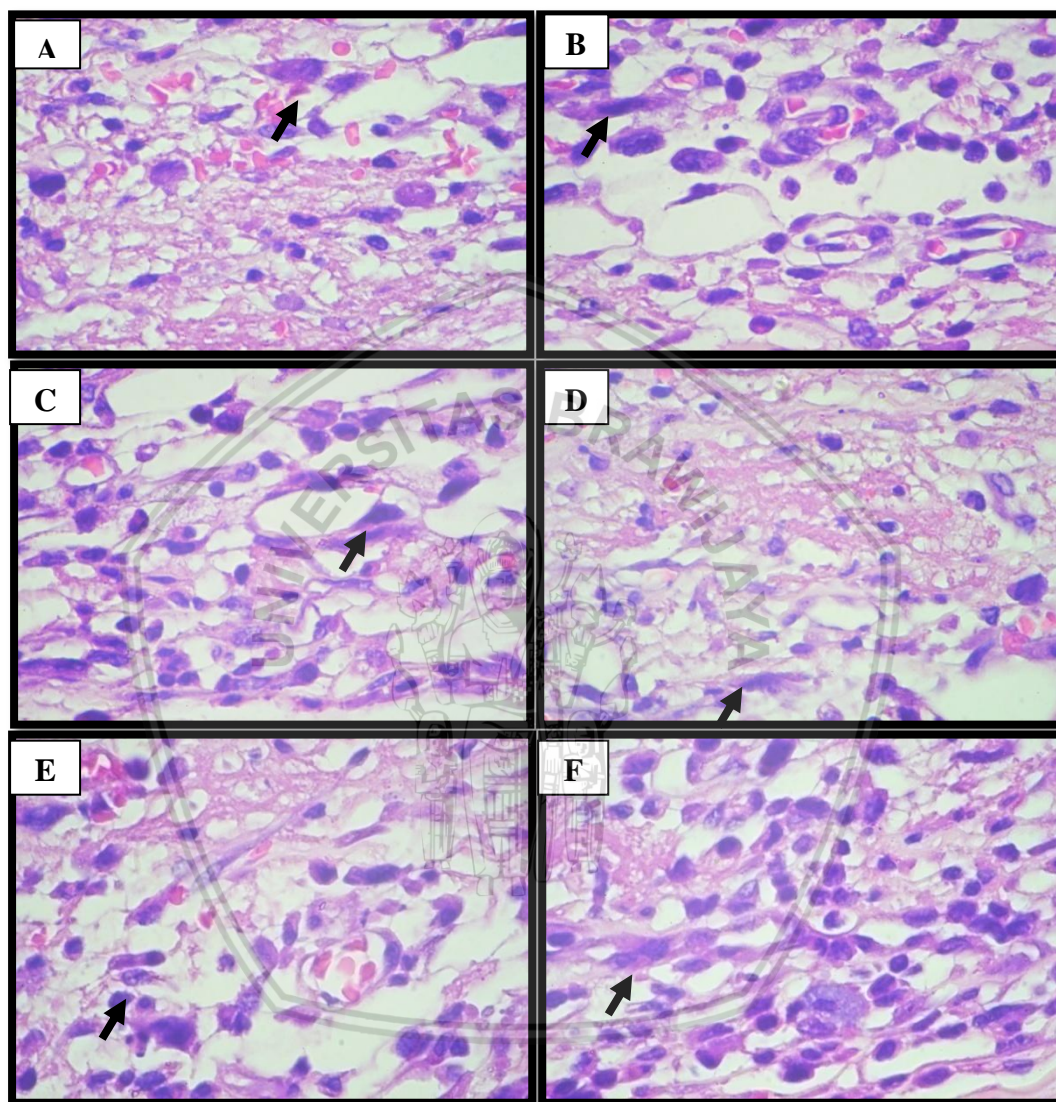
signifikan dibandingkan dengan K1 sebesar 71%, karena pembentukan fibroblas dimulai pada hari ke-4 setelah terjadinya luka yakni pada fase proliferasi.



Gambar 5.4. Diagram perbandingan rata-rata jumlah sel fibroblas pada kelompok terapi salep kitosan dengan kontrol bioplasenton pada hari ke-1, ke-3 dan ke-7.

Pada K7 rata-rata jumlah sel fibroblas juga mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan K3 sebesar 51% dan K1, serta mencapai puncaknya. Proliferasi sel fibroblas pada fase kesembuhan luka mengindikasikan adanya proses penyembuhan yang berlangsung cepat (Tifani dkk., 2015). Hasil yang tidak jauh berbeda juga dapat dilihat pada kelompok kontrol bioplasenton dimana jumlah rata-rata sel fibroblas terendah pada B1 yakni pada hari ke-1 setelah terjadinya luka yang merupakan fase inflamasi. Jumlah rata-rata sel fibroblas mengalami peningkatan yang signifikan sebesar 68% pada B3 yakni hari ke-3 setelah terjadinya luka dibandingkan dengan hari ke-1. Serta pada B7 yakni hari

ke-7 setelah terjadinya luka mengalami peningkatan yang signifikan dibandingkan dengan B3 sebesar 49% dan B1, karena telah memasuki fase proliferasi.



Gambar 5.5. Histologi Lapisan Dermis Kulit Tikus hari ke-1, ke-3, dan ke-7 (pewarnaan Hematoksilen Eosin, perbesaran 400x).

Keterangan: **A.** Terapi kitosan hari ke-1, **B.** Terapi kitosan hari ke-3, **C.** Terapi kitosan hari ke-7, **D.** Kontrol bioplasenton hari ke-1, **E.** Kontrol bioplasenton hari ke-3, **F.** Kontrol bioplasenton hari ke-7; sel fibroblas memiliki inti berwarna ungu dan berbentuk elips (sel fibroblas ditunjukkan dengan panah hitam).

Berdasarkan data dapat dilihat bahwa pemberian salep kitosan 5% dapat meningkatkan jumlah rata-rata sel fibroblas selama 7 hari, dari hari ke-1, hari ke-3

hingga hari ke-7 dengan angka yang tidak jauh berbeda dan sebanding dengan kontrol bioplasenton. Rata-rata jumlah sel fibroblas pada kelompok perlakuan salep kitosan hari ke-1 (K1) adalah 6.45, sedangkan pada kelompok kontrol bioplasenton (B1) adalah 6.60 serta dapat dilihat bahwa keduanya memiliki notasi sama yang menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan, maka dari data tersebut dapat diketahui bahwa kontrol positif bioplasenton memiliki efek yang hampir sama dengan perlakuan salep kitosan. Rata-rata jumlah sel fibroblas pada hari ke-1, baik pada perlakuan salep kitosan maupun kontrol bioplasenton merupakan rata-rata terendah dibandingkan rata-rata jumlah sel fibroblas hari lainnya. Hal tersebut karena pada hari pertama setelah terjadinya luka adalah fase inflamasi, dimana pada fase inflamasi belum terjadi proliferasi sel fibroblas secara signifikan. Saat jaringan mengalami peradangan maka sel fibroblas baru akan bermigrasi menuju area luka dan berproliferasi serta memproduksi matrix kolagen untuk memperbaiki jaringan yang rusak (Tifani dkk., 2015).

Pada hari ke-3 setelah terjadinya luka rata-rata jumlah sel fibroblas pada K3 dan B3 juga menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ditandai dengan notasi yang sama yaitu 22.45 ± 0.71^b dan 21.25 ± 1.22^b . Dibandingkan dengan terapi salep kitosan dan kontrol bioplasenton hari ke-1, pada hari ke-3 rata-rata jumlah sel fibroblas mengalami peningkatan yang signifikan. Hal ini disebabkan karena proses penyembuhan pada luka tersebut telah memasuki fase proliferasi. Fase proliferasi disebut juga fase fibroplasia, karena yang menonjol adalah proses proliferasi fibroblas. Fibroblas berasal dari sel mesenkim yang belum berdiferensiasi, menghasilkan mukopolisakarida, asam amino-glisin, dan prolin

yang merupakan bahan dasar serat kolagen yang akan mempertautkan tepi luka. Fase ini berlangsung dari akhir fase inflamasi sampai kira-kira akhir minggu ketiga yang ditandai dengan deposisi matriks ekstraselular, angiogenesis, dan epitelisasi (Vinna, 2011). Perbedaan yang tidak signifikan juga ditunjukkan oleh kelompok perlakuan salep kitosan hari ke-7 (K7) dibandingkan kelompok kontrol bioplasenton hari ke-7 (B7) dengan rata-rata jumlah sel fibroblas $46.25 \pm 6.52^\circ$ dan $42.40 \pm 5.45^\circ$. Berdasarkan notasi pada data diatas menunjukkan rata-rata jumlah sel fibroblas pada K7 dan B7 meningkat signifikan dibandingkan dengan K3, B3, K1 dan B1. Menurut Tifani (2015), bahwa sel fibroblas muncul pertama kali di area luka pada hari ke-3 setelah terjadinya luka dan mencapai puncak pada hari ke-7. Pada hari ke-3 merupakan awal dari fase proliferasi. Terjadi proliferasi epitel pada permukaan bekuan darah, fibroblas yang berasal dari sel mesenkim mulai berproliferasi dan menyebar masuk ke dalam bekuan darah. Pada hari ke-7 terjadi proliferasi sel fibroblas yang berasal dari jaringan ikat dan didapatkan jumlah sel fibroblas yang maksimal pada proses penyembuhan luka.

Berdasarkan data tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa kitosan mampu meningkatkan rata-rata jumlah sel fibroblas dari fase inflamasi ke fase proliferasi selama 7 hari pemberian terapi sebanding dengan kelompok kontrol bioplasenton dengan data yang telah ditunjukkan bahwa keduanya memiliki rata-rata jumlah sel fibroblas yang tidak jauh berbeda pada setiap pengamatan baik hari ke-1, ke-3 dan ke-7. Kitosan dapat digunakan sebagai fabrikasi (pembentukan fibroblas) sehingga memicu peningkatan *fibroblast growth factor-2* (FGF-2) pada fase proliferasi dengan mengaktifkan produksi sitokin yang akan mengaktifkan fibroblas di

jaringan luka, dalam aplikasi sebagai bahan benang penutup luka dan substrat yang bersifat *biodegradable* untuk pertumbuhan epitel kulit (Pillai *et al.*, 2009). Menurut penelitian Chiba *et al.* (2006), hewan model luka yang diberi kitosan memiliki resolusi neovaskularisasi yang lebih memadai, induksi fibroblas yang lebih cepat, dan serat kolagen yang lebih banyak. Fibroblas luka memiliki karakteristik unik dibanding fibroblas dalam jaringan normal, tampilannya myofibroblastik dengan ciri-ciri fenotif berupa filamen-filamen kontraktil berlimpah, persimpangan interselular yang rapat dan membran nukleus yang nampak berbeda. Kitosan dapat menstimulasi migrasi dari sel makrofag. Kitosan yang bermuatan positif akan bereaksi dengan permukaan muatan negatif dari *anionic polymer* sehingga mampu memfasilitasi migrasi sel inflamasi, sehingga sel radang meningkat. Sel limfosit dan sel makrofag berinteraksi secara dua arah. Makrofag memproduksi sitokin seperti Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α), IL-12, IL-6, dan IL-23, mengenalkan antigen kepada limfosit T, sehingga menimbulkan respon dari limfosit. Limfosit T yang teraktivasi akan memproduksi limfokin yang mengaktifkan lebih banyak monosit dan makrofag berupa *macrophage aggregating factor* (MAF) / IFN- γ dan *macrophage chemotactic factor* (MCF). Limfosit selanjutnya menghasilkan sitokin IL-2 dan *fibroblast activating factor* yang mempengaruhi sel fibroblas sehingga menunjang tahap penyembuhan luka berikutnya (Sularsih, 2017).

BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan yang telah disampaikan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Pemberian terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) 5% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar dapat memberikan efek yang sama terhadap peningkatan ekspresi FGF-2 seperti kontrol bioplasenton.
2. Pemberian terapi salep ekstrak kitosan cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) 5% pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi luka bakar dapat memberikan efek yang sama terhadap peningkatan jumlah sel fibroblas seperti kontrol bioplasenton..

6.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang efektivitas proses kesembuhan pada terapi pemberian salep kitosan yang dihasilkan dari bahan alami seperti ekstrak cangkang rajungan (*Portunus pelagicus*) dengan kitosan hasil sintesis.

DAFTAR PUSTAKA

- Aditiya P. W., Barii H.P., Rizqi Afrian J., Sri Tasminatun. 2012. *Pengaruh Kitosan secara Topikal terhadap Penyembuhan Luka Bakar Kimiawi pada Kulit Rattus norvegicus*. Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. Mutiara Medika; 12(3): 177-187
- Agus P. 2014. *Perawatan Luka Bakar Derajat II dengan Madu Terhadap Lama Penyembuhan Luka Pada Auhan Keperawatan An D dengan Combustio di IGD RSUD Wonogiri. Skripsi*. Surakarta : Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Kusuma Husada Surakarta.
- Ama F, A. Arifin , D. Legowo, 2010. *Studi pengaruh stimulasi elektrik (ES) pada proses percepatan penyembuhan luka kulit marmut (Cavia cobaya)*. Bagian Teknik Elektro ITS. Surabaya 453: 314–321.
- Azhar, M., J. Efendi, E. Syofyeni, R.L. Marfa, S. Novalina. 2010. *Pengaruh Konsentrasi NaOH dan KOH terhadap Derajat Deasetilisasi Kitin dari Limbah Kulit Udang*. EKSAKTA : 1(10)
- Balqis, U., Rasmaidar, Marwiyah. 2014. *Gambaran Histopatologi Penyembuhan Luka Bakar Menggunakan Daun Kedondong (Spondias dulcis f.) dan Minyak Kelapa pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. *Jurnal Medika Veterineria* 8(1): 31-36.
- Barbara AB, G. Glen, S. Marjorie. 2013. *Willard and Spackman's Occupational Therapy (12th Ed)*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Betz, C.L. 2009. *Buku Saku Keperawatan Pediatri Edisi 5*. Jakarta : EGC
- Broughton, G., J.E. Janis, C.E. Attiger. 2006. *Wound Healing: Vol 117*. buku asli: *A Textbook of Histology*. Penerbit Buku Kedokteran EGC,
- Burkatovskaya, M., G.P. Tegos, E. Swietlik, T.N. Demidova, A.P. Sactano, and M.R. Hamblin. 2006. *Use of Chitosan Bandage to Prevent Fatal Infections Developing from Highly Contaminated Wounds in Mice*. *Biomater.* 27 (22): 4157-4164.
- Chiba, Y., A. Kamada, S. Sugashima, K.Taya, S. Matsubuchi, T. Saito. 2006. *Effects of Intravenous Administration of Chitosan Oligosaccharide on the Wound Healing Process of Oral Mucosal Injury in Mice*. *Ohu University Dental Journal*. 33 (4): 207-213

- Djameludin, A.M. 2009. *Pemanfaatan Khitosan dari Limbah Krustasea Untuk Penyembuhan Luka pada Mencit (Mus musculus albinus)*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Institut Pertanian Bogor.
- Djuwita, H., Widyaputri T., Efendi A., Kaiin E.M., dan Nurhidayat. 2010. Tingkat Pertumbuhan dan Analisa Protein Sel-sel Fibroblas Fetal Tikus Hasil Kultur In Vitro. *Indonesian Journal Of Veterinary Science & Medicine*. 1(2): 9-16.
- Dunne, J. A. and J.M. Rawlins. 2014. Management of burns. *Surgery journal*32(9), 477-484.
- Dutta P K, J. Dutta, V. S. Tripathy. 2004. Chitin and Chitosan. *Chemistry and Applications. Journal of scientific & Industrial Research*, 63: 20-31 Edition. London: John Willey& Sons Inc. p.336.
- Edi, W. 2005. *Peranan Makrofag Pada Proliferasi, Diferensiasi Dan Apoptosis Pada Proses Hematopoiesis (Penelitian Pada Limpa Janin Tikus Dan Aspirat Sumsum Tulang Manusia)*. Bagian Patologi Klinik Fakultas Kedokteran Unibraw /RSU dr. Saiful Anwar Malang.
- Effendi, C. 1999. *Perawatan Pasien Luka Bakar*. Jakarta : EGC (25):5-6.
- Erma. 2015. *Pengaruh Pemberian Makanan Tambahan Pemulihan Terhadap Perubahan Berat Badan Balita Bawah Garis Merah Di Wilayah puskesmas Klambu Kabupaten Grobogan*. Fakultas Kesehatan Muhammadiyah Semarang.
- Ermawati, Y. 2009. Pemanfaatan Kitosan Dari Limbah Rajungan (*Portunus pelagicus*) Sebagai Antimikroba Pada Obat Kumur. *Jurnal*. Universitas Gajah Mada Yogyakarta.
- Eroschenko , V.P. 2003. *Atlas Histologi Di Fiore Dengan Korelasi Fungsional*. Jakarta:EGC.
- Faler BJ, R.A. Macsata, D. Plummer, L. Mishara, AN. Sidawi.2006. *Transforming growth factor- β and wound healing. Perspectives in vascular surgery and endovascular therapy*. USA: Westminster Publications. Inc.18(1): 55-62.
- Fatchiyah, E.L., Arumingtyas, S. Widyarti, S. Rahayu. 2009. *Dasar-dasar Analisis Biologi Molekuler*. Malang : LSIH Press 186-188.
- Fawcett, D.W. 2002. *Buku Ajar Histologi*, penerjemah: Tambayong, A.
- Febam, B.P., I. Wientarsih, B. Pontco. 2010. Aktivitas Sediaan Salep Ekstrak Batang Pohon Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var *sapientum*) dalam

Proses Persembuhan Luka pada Mencit (*Mus musculus albinus*). *Majalah Obat Tradisional*. 15(3): 121-137.

Fira. 2009. *Pertolongan Pertama Luka Bakar*. diakses pada 4 Desember 2017 dari <http://corpusalienum.multiply.com/reviews/item/44>.

Firdaus, M.F.P., Madyawati, N.S. Widjaja, M. Lamid, K. Rachmawati, S.H Warsito. 2013. Efektifitas Penambahan Kombinasi Tujuh Enzim Terhadap Estimasi Pertumbuhan Berat Badan Sapi Potong Peranakan Simental. *Jurnal Agroveteriner*. 2(1):3.

Flaumenhaft, R., D. Moscatelli, O. Saksela, and D.B. Rifkin. 1989. *Role of extracellular matrix in the action of basic fibroblast growth factor: matrix as a source of growth factor for long-term stimulation of plasminogen activator production and DNA synthesis*. *J. Cell. Physiol*. 140:75–81.

Folkman, J., M. Klagsbrun, J. Sasse, M. Wadzinski, D. Ingber, and I. Vlodavski. 1988. *A heparin-binding angiogenic protein—basic fibroblast growth factor—is stored within basement membrane*. *Am. J. Pathol*. 130:393–400.

Freshney, R.I. 2005. *Culture on Animal Cells : A Manual Of Basic Techniques* 5th

Gandhi, M., Pandey, P. 2010 Chitosan as potential carrier for bioadhesive drug delivery system. *Journal of Natura Conscientia*. (3) : 223-226

Gayline, A.B., Pancia, B., Valerie, C. 2000. *Delmar's Fundamental and Advanced Nursing Skill*. Canada: Delmar.

Goeser, A.L. 2008. *Kulit, Rambut dan Kuku*. Raylene M Rospond.(8) : 265-271

Grace, P.A., N.R. Borley. 2007. *At Glance Ilmu Bedah* (3rd ed.). Jakarta: Erlangga 86-87

Guyton, A.C. dan J.E. Hall. 2006. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. (Diterjemahkan Setiawan, I. dan A. Santoso). Edisi ke-9. Jakarta : EGC.

Hafiluddin. 2003. *Studi proses isolasi khitin dari cangkang rajungan (Portunus sp.) dengan menggunakan mesin ekstraksi semi otomatis*. Skripsi. Bogor: Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor.

Handi, P., Sriwidodo, Soraya, R. 2015. *Jurnal Farmaka Review Sistematis: Proses Penyembuhan Dan Perawatan Luka*. Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran. Bandung.

- Hastuti, B., dan N. Tulus. 2015. *Sintesis Kitosan dari Cangkang Kerang Bulu (Anadara Inflata) Sebagai Absorben Ion CU^{2+}* . ISBN: 978-602-73159-0-7.
- Hasyim, N., K.L. Pare, L. Junaid, A. Kurniati. 2012. Formulasi dan Uji Efektivitas Gel Luka Bakar Ekstrak Daun Cocor Bebek (*Kalanchoe pinnata* L.) pada Kelinci (*Oryctolagus coniculus*). *Majalah Farmasidan Farmakologi*. **16**(2): 89-94 Jakarta, P: 628.
- Jayakumar R, M. Prabakaran, P.T. Sudheesh Kumar, S.V. Nair, H. Tamura. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol Adv* 2011; 29(3): 322-7.
- Jeschke M.G., Branski L.K., Herndon D.N., Celis M.M., Norbury W.B., Masters O.E., 2008. Amnion in the treatment of pediatric partial thickness facial burns. *Burns* 34(3):393–9.
- Jinab, Y., P.X. Lingab, Y.L. Heb, and T.M. Zhangab. 2006. Effects of Chitosan and Heparin on Early Extension of Burns. *Burns* 33 (8): 1027-1031.
- Junqueira LC, J. Carneiro. 2007. *Histologi Dasar*. Edisi 10. Jakarta : EGC.
- Kanda, S., M. Yasuyoshi, and K. Hiroshi. 2004. Fibroblast Growth Factor-2-mediated Capillary Morphogenesis of Endothelial Cells Requires Signals via Flt-1/Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1. *The Journal Of Biological Chemistry* 279 (6):4007-4016.
- Kasten, Kevin, Makley, R.J. Kagan. 2011. *Burn and inhalation injuries*. In: Fuhrman BP, Zimmerman JJ, Carcillo JA, Clark RSB, Relvas M, Rotta AT, et al eds. *Pediatric critical care*. 4th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders.p. 1489 99.
- Krinke, G. J. 2000. *The Handbook of Experimental Animals The Laboratory Rat*.
- Kusriningrum. 2008. *Dasar Perancangan Percobaan dan Rancangan Acak Lengkap*. Surabaya : Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Surabaya.
- Kusumawardhani, A.D. 2013. *Pengaruh Sediaan Salep Ekstrak Daun Sirih (Piper betle linn) Terhadap Jumlah Fibroblast Luka Bakar Derajat IIA pada Tikus Putih (Rattus norvegicus) Galur Wistar*. Tesis. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
- Li, J., Chen, J., R. Kirsner. 2007. Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in Dermatology*. Vol: 25.

- Majewska I. Gendaszewska, E. Darmach. 2011. *Proangiogenic Activity of Plant Extracts in Accelerating Wound Healing — A New Face of Old Phytomedicines*. Faculty of Biotechnology and Food Sciences Technical University of Łódź, Łódź Poland :Acta Bio-chimica Polonica. 58(4): 449-460.
- Majid,A.P.2013.*Perawatan Pasien Luka Bakar*.Yogyakarta :Gosyen
- Masami, I., Hiromichi, O., Rui, I., Masahiro, N.,Kiyotaka, W., Seiichi, K. 2002. Effect of Liquid Chitosan in Wound Healing of Cattle. *Journal ClinVet Med*. 20 (2):46-49.
- Masuoka, K., Ishihara, M., Asazuma, T., Hattori, H.,Matsui, T., Takase B. 2005. *The interaction of chitosan with fibroblast growth factor-2 and its protection from inactivation*. Biomaterials, 26 (16): 3277-3284.
- Mizuno, K., K. Yamamura, K. Yano, T. Osada, S. Saeki, N. Takimoto. 2002. Effect ofChitosan Film Containing Basic FibroblastGrowth Factor on Wound Healing in GeneticallyDiabetic Mice.*Journal of Biomed Mat Res*.64A (1): 177-181.
- Moe T, Khaing T, Han T, & Mon H. 2008. *Effects of Chitosan Films on Wound Healing and Evaluation of Their Properties*. 1-4
- Moenadjat. 2003. *Luka Bakar Pengetahuan Klinis Praktis* (2nd ed.) p:1-82 Jakarta:Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Mori T., M. Murakami, M. Okumura, T. Kadosawa, T. Uede, T. Fujinaga. 2005. Mechanism of macrophage activation by chitin derivatives. *Journal VetMed Sci*; 67(1): 51-6.
- Multazam. 2000. *Prospek Pemanfaatan Cangkang Rajungan (Portunus sp) sebagai Suplemen Pakan Ikan. Skripsi*. Jurusan Teknologi Hasil Perikanan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Institut Pertanian Bogor.
- Muscari, M. 2005. *Keperawatan Pediatric. Edisi 3*. Jakarta: EGC.
- Naibaho, O.H., V.Y.Y Paulina, W. Weny. 2013. *Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (Omicum sanctum L.) pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi Staphylococcis aureus*. Jurnal Ilmiah Farmasi Unstrat: 2(02).New York : Academy Press.
- Nisanci M., M. Eski, I. Sahin, S. Ilgan, S. Isik. 2010. Saving the zone of stasis in burns with activated protein C: an experimental study in rats. *Burns*. 36:397–402.

- Nugroho, W. 2008. *Keperawatan Gerontik & Geriatrik*, Edisi-3. Jakarta:EGC
- Nurul I. 2010. *Pembuatan Hidrogel Kitosan Glutaraldehid Untuk Aplikasi Penutup Luka Secara In Vivi. Skripsi*. Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga Surabaya.
- Okamoto Y., K. Kojima, K. Miyatake, H. Fujise, Y. Shigemasa, S. Minami. 2004. Effects of Chitin and Chitosan on Collagen Synthesis in Wound Healing. *Journal Vet Med Sci*; 66(12): 1595-98.
- Pillai, C. K. S., C.P. Sharma. 2009. Electrospinning of Chitin and Chitosan Nanofibres. *Trends Biomater. Artif.Organs*; 22(3):179-201
- Porter, S. 2007. The Role Of The Fibroblast in Wound Contraction and Healing Wounds UK.3(1): 33-40.
- Prasetyono T.O.H. 2009. General Concept of Wound Healing, Revisited, *Medical Journal of Indonesia*. 18 (3): 208–216.
- Rachmawati, W., D. Herasari, Husniati. 2012. *Produksi Kitosan dari Bahan Baku Cangkang Udang Menggunakan Metode Kimia dan Enzimatis dengan Enzim Kitin Deasetilase. Skripsi*. Universitas Lampung.
- Rizzo, D. C. 2001. *Delmar's Fundamentals of Anatomy and Physiology*. New York: Thomson Learning.
- Robbin. 2007. *Buku Ajar Patologi*. Volume 1. Jakarta: EGC.
- Sadanori, A. 2013. *Basic Fibroblast Growth Factor in Scarless Wound Healing*. Department of Developmental and Reconstructive Medicine, Nagasaki University, Japan
- Santoso, D. 2001. *Ramuan Tradisional Untuk Penyakit Kulit*. Edisi Kedua. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.(1)
- Shelma R., W. Paul, and C.P. Sharma. 2008. Chitin Nanofibre Reinforced Thin Chitosan Films for Wound Healing Application. *Trends Biomaterials and Artificial Organs*. 22 (2): 111-115.
- Smeltzer, S.C., B.G. Bare, J.L.Hinkle, K.H. Cheever. 2010. *Medical surgical Nursing*. 12th edition. Philadelphia: Lippincott William Wilkins.
- Srijanto, B. 2003. *Kajian Pengembangan Teknologi Proses Produksi Kitin dan Kitosan secara Kimiawi*. Prosiding Semnas Teknik Kimia Indonesia(1): 1-5

- Sularsih. 2017. *Penggunaan Kitosan dalam Proses Penyembuhan Luka Pencabutan Gigi Rattus Norvegicus*. Tesis. Universitas Airlangga Surabaya. h42-48.
- Summer G.J., Puntillo K.A., Miaskowski, C. 2007. Burn injury pain: the continuing challenge. *The Journal of Pain*. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1526590007005123>
- Sunarto. 2011. *Sintesis Kitosan dan Pemanfaatannya Sebagai Anti Mikrobia Ikan Segar*. Laporan Penelitian Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Semarang.
- Suriadi. 2004. *Perawatan Luka Edisi 1*. Jakarta: CV Sagung Seto.
- Syamsuhidayat R. and W. De Jong. (2005). *Buku Ajar Ilmu Bedah* (2nd ed.). Jakarta: EGC, 73-81
- Tan J.Q., Zhang H.H., Z.J. Lei, P. Ren, Deng C., X.Y. Li. 2013. The roles of autophagy and apoptosis in burn wound progression in rats. *Burns*. p39:1551 – 6
- Tifani, A., Andina, R., Muhammad, D. 2015. *Efektivitas Pemberian Gel Binahong (Anredera Cordifolia) 5% Terhadap Jumlah Sel Fibroblast Pada Soket Pasca Pencabutan Gigi Marmut (Cavia Cobaya)*. Fakultas Kedokteran Gigi Unissula Semarang.
- Thisse, B., C. Thisse. 2005. *Functions and Regulation of Fibroblast Growth Factor Signaling During Embryonic Development*. Dev Biol, 287, 12
- Tjay dan Rahardja, 2002, *Obat-obat Penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek Sampingnya, Edisi V*. Jakarta : Gramedia.
- Vinna, K. 2011. Peningkatan Penyembuhan Luka di Mukosa Oral Melalui Pemberian Aloe Vera (Linn.) Secara Topikal. *Skripsi*. Program Studi Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha. Bandung.
- Wasitaatmadja, S.M. 2007. *Anatomi Kulit*. Dalam: Adhi Djuanda, Mochtar Hamzah, Siti Aisah editor. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI: 3-5.
- Werner, S., G.C. Gurtner, Y. Barrandon, M.T. Longaker, 2007. *Wound Repair*
- Wolfensohn, S., and M. Lloyd. 2013, *Handbook of Laboratory Animal Management and Welfare*, 4th ed. West Sussex : Wiley-Blackwell.

Yusuf, M.S. 2014. *Efektivitas penggunaan jintan hitam (Nigella sativa) dalam proses percepatan penyembuhan luka setelah pencabutan gigi*. Bagian Ilmu Bedah Mulut Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hasanuddin, Makassar.

